

UNIVERSIDAD CARLOS III DE MADRID

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR



Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial

PROYECTO FIN DE CARRERA

**SEGMENTACIÓN AUTOMÁTICA DE TEJIDO CEREBRAL
EN IMAGEN PRECLÍNICA**

Autor: Natalia Sánchez Illán

Tutor: Javier Pascau González-Garzón

Leganés, Octubre de 2012

Título: *Segmentación automática de tejido cerebral en imagen preclínica.*

Realización: *Laboratorio de Imagen Médica, Unidad de Medicina y Cirugía Experimental. Hospital General Universitario Gregorio Marañón.*

Autor: *Natalia Sánchez Illán.*

Director: *Javier Pascau González-Garzón.*

EL TRIBUNAL

Presidente: Juan José Vaquero López

Vocal: José Jesús García Rueda

Secretario: Mónica Abella García

Realizado el acto de defensa y lectura del Proyecto Fin de Carrera el día 29 de Octubre de 2012 en Leganés, en la Escuela Politécnica Superior de la Universidad Carlos III de Madrid, acuerda otorgarle la CALIFICACIÓN de

VOCAL

SECRETARIO

PRESIDENTE

A mis padres y hermana

AGRADECIMIENTOS

Resulta curioso pararse a pensar hacia dónde nos lleva la vida. En mi caso, cómo una casualidad ha hecho que hoy esté escribiendo lo siguiente...

Hace aproximadamente un año y medio, tuve una conversación con mi tutor de prácticas externas en empresa, José Jesús García Rueda. Me preguntó sobre qué tema me gustaría que se centrara mi proyecto, a lo que yo respondí que me encantaría hacerlo sobre neuroingeniería. Él acababa de estar en una charla de presentación del grupo de bioingeniería y me propuso que contactase con Manuel Desco. Fui a visitar a Manolo y ‘sus chicos’, me enseñaron el laboratorio, la unidad de medicina y cirugía experimental, las máquinas de resonancia, CT y PET... Yo estaba loca de contenta con todo lo que estaba viendo y aprendiendo. No tenía ni idea de que existía todo aquello en Madrid. Gracias a la confianza de Manolo, Javier Pascau y José María Mateos, obtuve mi actual beca de administración del laboratorio. Esto me permitió realizar el proyecto de fin de carrera en el mismo lugar de trabajo y conocer a mis compañeros, personas de incalculable valor en múltiples aspectos.

En primer lugar quiero darles las gracias a mis padres por todo lo que han hecho por mí; si no fuera por ellos yo habría tirado la toalla hace mucho tiempo. A mi hermana, por sus llamadas y sus muestras tan efusivas de alegría cuando le decía que había aprobado alguna asignatura atragantada. A mi tío Paco, mis primos Carlos, Visto, Chabe, Ana Belén y Lourdes, que son como mis hermanos, gracias por vuestro interés y vuestras oraciones. Gracias a mis abuelos Pedro y Máxima, que aunque ya no están entre nosotros, sé que se sentirán muy orgullosos.

Gracias a mis mejores amigos Mapi, Gerar, Jose, Edu, Karina, Ani y Alicia, por su incesante interés sobre mi avance y por estar conmigo tanto en lo bueno como en lo malo. A mis amigos y compañeros de la universidad Marta, Alberto, Jorge, Sergio, María y Víctor Miguel, por todas las horas de estudio compartidas y por vuestro apoyo.

Gracias a Eu, el señorito Marinetto, sin el que este proyecto no podría haber llegado a su fin. Gracias por todas las horas invertidas y por tener paciencia conmigo. Eres una grandísima persona y amigo. Gracias a Chema, por compartir su sabiduría informática y hacer fácil lo difícil.

A Yasser, por sus inmensos conocimientos de Matlab y resolver mis dudas sobre elasticidad. A Cristina Chavarrías, por ayudarme con SPM. A Verónica García, por resolver mis dudas con SPSS y la consola. A Fidel, por ayudarme a comprender las redes neuronales. A Marisa y Marina, por segmentar los *templates*. A mis antiguos compañeros de despacho Juan Aguirre, Marina, Cris, Paula y Chema, por aguantarme y hacerme reír. En general, gracias a todos mis compañeros del LIM. También tengo presente a Santi Reig; gracias por tu sonrisa y tu positividad. Prometo someterme a una resonancia para investigación en un futuro y superar mi miedo. Lamento que no me la hicieses tú. Gracias a mi tutor Javier Pascau, por proponerme trabajar con neuroimagen y aceptar dirigirme este proyecto.

Gracias a todos los que creyeron en mí cuando yo misma había perdido la fe; soy lo que soy por vosotros.

RESUMEN

En estudios preclínicos neurológicos de imagen de resonancia magnética (MRI) en pequeños animales es común el uso de la segmentación cerebral para su posterior análisis volumétrico y/o registro con otras modalidades de imagen. Este proceso suele realizarse de forma manual, por lo que a menudo se emplea una gran cantidad de tiempo dependiendo del estudio.

En este trabajo se propone un nuevo método de segmentación automática basado en registro para facilitar dicho proceso. La propuesta se ha comparado con dos métodos: segmentación manual, que se emplea como referencia, y una segmentación basada en PCNN (Pulse Couple Neural Network) propuesta específicamente para imágenes de rata. El método propuesto consigue buenos resultados en índice de solapamiento y volumen cerebral comparado con el manual, y ofrece además una reducción considerable en el tiempo de ejecución comparado con PCNN.

PALABRAS CLAVE:

MRI, segmentación, registro, SBR, PCNN.

El presente proyecto ha sido realizado en el departamento de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid, bajo la dirección del Dr. Javier Pascau González-Garzón.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Justificación del proyecto	1
1.2 Estructura de la memoria	3
1.3 Imagen médica	4
1.3.1 Imagen por resonancia magnética	8
1.4 Segmentación	16
1.4.1 Dificultades para la segmentación	16
1.4.2 Métodos de segmentación	21
1.5 Registro de imagen	26
1.5.1 Transformaciones geométricas y registro	26
1.5.2 Métodos de registro	27
2. OBJETIVOS	30
3. ESTADO DEL ARTE	32
3.1 Antecedentes en segmentación	32
4. MATERIAL Y MÉTODOS	37
4.1 Descripción del juego de datos	37
4.2 Segmentación mediante SBR	38
4.2.1 Pre-procesado para imágenes BEA-PCNN	41
4.3 Método BEA-PCNN	42
4.4 Criterios de evaluación	45
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
5.1 Imágenes BEA-PCNN	46
5.2 Imágenes UMCE	51
6. CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO	54
7. GLOSARIO	56
8. REFERENCIAS	58

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Justificación del proyecto

El trabajo del Laboratorio de Imagen Médica de la Unidad de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital General Universitario Gregorio Marañón se orienta fundamentalmente a la investigación en técnicas de imagen médica, tanto en lo que se refiere al desarrollo de nuevas tecnologías y métodos de procesamiento como a su aplicación práctica. Las técnicas de imagen que abarcan son tomografía por rayos X, imagen nuclear, resonancia magnética y tomografía óptica. El carácter marcadamente pluridisciplinar del grupo (formado por médicos, ingenieros, biólogos, físicos, etc.) y su ubicación en el hospital facilita una fuerte conexión con necesidades reales clínicas y preclínicas.

Los estudios preclínicos son pruebas que se llevan a cabo en un contexto científicamente controlado con utilización de cultivos celulares y animales como modelos. Estos modelos se emplean debido al bajo coste de mantenimiento, corto ciclo reproductivo, disponibilidad y facilidad de transporte [1]. La finalidad de dichos estudios es predecir, estudiar y evaluar el comportamiento del organismo frente a nuevos fármacos, investigar procesos biológicos en neurología, oncología, cardiología, así como expresión y terapia génicas [2]. La información derivada de estos estudios es vital para su posterior evaluación clínica [3].

Dentro del abanico de técnicas de imagen disponibles, la resonancia magnética posee un papel notable gracias a su extenso número de aplicaciones: imagen anatómica de alta resolución, espectroscopía, angiografía, perfusión de tejido, difusión, transferencia de magnetización, resonancia funcional, estudios dinámicos cardíacos, seguimiento de células y un largo etcétera. Una de las líneas de investigación en las que se trabaja en este laboratorio es la neuroimagen preclínica, donde la resonancia magnética juega un papel importante debido a que es la modalidad de imagen anatómica más adecuada para el cerebro.

Un procedimiento habitual en análisis de imágenes cerebrales es su segmentación, definida de una manera general como la identificación de objetos en la imagen bajo estudio. Para cada imagen en particular, el propósito es identificar aquellos objetos que van a ser posteriormente cuantificados o visualizados, de manera que la definición de segmentación toma sentido en función de su finalidad. En el caso de neuroimagen, suelen segmentarse regiones amplias como el cerebro total o el cerebelo, o subestructuras como el hipocampo, caudados, etc.

Existen diversas aplicaciones en las se necesita la segmentación cerebral total: estudio de la morfología de estructuras anatómicas, análisis volumétrico basado en registro como *Voxel based morphometry (VBM)*, cuantificación, visualización

tridimensional o registro con otras modalidades de imagen que aporten información funcional.

El procedimiento más exacto para obtener una segmentación es efectuarla manualmente por un experto mediante la utilización de herramientas adecuadas. Sin embargo, cuando el estudio se realiza en un número considerable de individuos, conlleva la inspección de un gran volumen de datos, lo que requiere una gran cantidad de tiempo y esfuerzo si se realiza manualmente.

Este problema ha suscitado el interés del laboratorio para obtener un método de segmentación de imagen de resonancia magnética preclínica que permita realizar esta operación de forma rápida y repetible. Para ello, se propuso el empleo de técnicas de registro que permitan confeccionar un atlas (imagen ‘modelo’) a partir de las imágenes que se quiere segmentar. Es en este marco de actuación en el que cobra vida y adquiere sentido la realización de este proyecto.

1.2 Estructura de la memoria

El presente documento ha sido dividido en 8 capítulos de los que a continuación se muestra un breve resumen.

- Capítulo 1: Se justifica el motivo de realización de este trabajo y se presentan el concepto de imagen médica y, con más detalle, la imagen por resonancia magnética, las herramientas de análisis y procesado de imagen utilizadas (registro y segmentación).
- Capítulo 2: Se enumeran los objetivos de este proyecto.
- Capítulo 3: Se detalla el estado del arte en la segmentación de imágenes de resonancia magnética en humano y pequeño animal (rata y ratón, en concreto). Se revisan las referencias existentes, justificando su elección o exclusión como objeto de estudio.
- Capítulo 4: Se describen los métodos de segmentación utilizados, las características de las imágenes de cerebro de rata y ratón disponibles que servirán para validar dichos métodos y el procesado previo realizado a cada grupo de imágenes dependiendo del algoritmo de segmentación empleado.
- Capítulo 5: Se muestran los resultados obtenidos para cada método.
- Capítulo 6: Se redactan las conclusiones y líneas futuras de este trabajo.
- Capítulo 7: Se recogen la lista de acrónimos empleados a lo largo del trabajo en este documento.
- Capítulo 8: Se muestran las referencias bibliográficas consultadas a lo largo del desarrollo del proyecto.

1.3 Imagen médica

Se define *imagen médica* como la representación de la distribución espacial de una o más propiedades físicas o químicas de un sistema biológico. Dos parámetros relevantes en la imagen son el contraste y la resolución.

El *contraste* se define como diferencia de intensidad entre dos áreas, medida como diferencia absoluta o relativa (en este caso, contraste relativo) de la cantidad física que mida la modalidad. Es esencial tener claro el origen de dicho contraste, es decir, saber qué parámetro físico o químico es el que está siendo representado en forma de intensidad luminosa.

La *resolución espacial* ayuda a caracterizar la imagen en función de su capacidad para distinguir detalles. Frecuentemente se define como la distancia mínima que se es capaz de resolver o distinguir en la imagen, medida en unidades de longitud físicas (milímetros o micras en biología). Este modo de medir la resolución es el más intuitivo aunque no el único utilizado. Según el tipo de imagen, se puede expresar en: puntos por pulgada (*dpi*, ‘dots per inch’), pares de líneas por centímetro, etc.

En resumen, el contraste de una imagen determina qué cantidad de variable física podemos ver en ella y su resolución espacial nos indica el grado de detalle con que se representará dicha información en el espacio.

Otro parámetro de interés es la *resolución temporal*, ya que determina la capacidad del sistema de imagen para ‘congelar’ situaciones en el tiempo y está estrechamente relacionado con la velocidad de adquisición de las imágenes por el sistema.

Las imágenes contienen no sólo información de interés, que representa fielmente los objetos o funcionalidades en que estamos interesados, sino también datos espurios o erróneos que los distorsionan. Esta información superpuesta no deseada se denomina *ruido* si tiene carácter aleatorio o *artefacto* en otro caso.

Se denominan *modalidades de imagen* a las diferentes técnicas de obtención de imagen médica. El elemento básico que define las diferentes modalidades es el tipo de energía utilizada. Como en casi todo proceso de medida, la obtención de imágenes médicas implica irradiar la muestra (el paciente, en este caso) con algún tipo de energía. El carácter de la misma definirá el contraste de la imagen y también dará nombre a la modalidad correspondiente. Las modalidades fundamentales de imagen médica son:

- Radiología (radiación electromagnética: rayos X).
- Ecografía (energía ultrasónica).
- Medicina Nuclear (radiación electromagnética: radiación gamma).
- Resonancia Magnética (radiación electromagnética: ondas de radio).

Es interesante resaltar que el tipo de energía utilizada determina el tipo de interacción física que se produce entre la radiación y los tejidos biológicos y, por tanto, en qué medida puede ser nociva para el organismo. Se denominan *radiaciones ionizantes* aquellas que por su alta energía son capaces de inducir directamente reacciones químicas, a través fundamentalmente de la ionización de diferentes

moléculas. Las radiaciones no ionizantes se limitan a producir calentamiento que, en principio, no presenta efectos biológicos relevantes si no es muy elevado.

Es muy frecuente clasificar las modalidades en *morfológicas* (o estructurales) y *funcionales*. Las primeras se caracterizan por producir imágenes de muy buena resolución, que permiten una representación muy detallada de la anatomía del paciente. Las segundas, en cambio, se caracterizan por aportar información sobre el funcionamiento de los diferentes órganos o sistemas: algún rasgo de su metabolismo, su perfusión sanguínea, su capacidad para acumular ciertas sustancias, etc.

Otra característica importante de las imágenes médicas deriva de su capacidad para separar objetos que se hallan a diferentes profundidades. Se *llaman imágenes proyectivas* aquéllas que representan la suma del parámetro medido a lo largo de todas las estructuras del objeto, proyectada sobre una superficie bidimensional. Por el contrario, cuando el método de imagen es capaz de separar diferentes planos –‘cortar la muestra en rodajas’-, cada uno de los cuales se representa en una imagen bidimensional, se denomina *tomográfico*. La imagen tomográfica evita problemas de superposición de objetos, facilitando notablemente su interpretación [4].

A continuación se muestra un resumen de características para las modalidades de imagen más relevantes y una comparativa.

Modalidad	Técnica de imagen	Energía	Ionizante	Tomográfica
Radiología	Radiología convencional	Rayos X	Sí	No
	Radiología Digital	Rayos X	Sí	No
	Tomografía Computarizada (CT)	Rayos X	Sí	Sí
Medicina Nuclear	<i>SPECT</i>	Rayos γ	Sí	Sí
	<i>PET</i>	Rayos γ	Sí	Sí
Ecografía	Ecografía	Ultrasonido	No	Sí
Resonancia Magnética	<i>MRI</i>	Ondas Radio	No	Sí
	Resonancia Funcional (<i>fMRI</i>)	Ondas Radio	No	Sí

Tabla 1.1. Modalidades de imagen médica.

	Radiología (placas)	Radiología Digital	<i>CT</i>	<i>NM</i>	<i>US</i>	<i>MR</i>
Resolución espacial (píxeles por imagen)	2000 ²	2000 ²	(256-512) ²	128 ²	512 ²	512 ²
Resolución de contraste (bits por píxel)	14	12	12	8	8	12
Radiación	Media	Baja	Media	Media	No	No
Coste	Bajo	Medio	Alto	Medio	Medio	Alto
Función fisiológica	No	No	No	Sí	No	Alguno
Portabilidad	Sí	No	No	No	Sí	No

Tabla 1.2. *Comparativa de modalidades.*

1.3.1 Imagen por resonancia magnética

La imagen por resonancia magnética (*Magnetic Resonance Imaging, MRI*) es una de las modalidades de imagen médica de más reciente aparición y que han experimentado un avance más rápido. Proporciona una buena resolución espacial y un excelente contraste. Puede producir imágenes morfológicas y funcionales, y su abanico de aplicaciones se amplía día a día, complementando a otras modalidades (*CT*, angiografía, ecografía, etc.). En la Figura 1.1 podemos observar un corte transaxial de *MRI* de cerebro de rata.

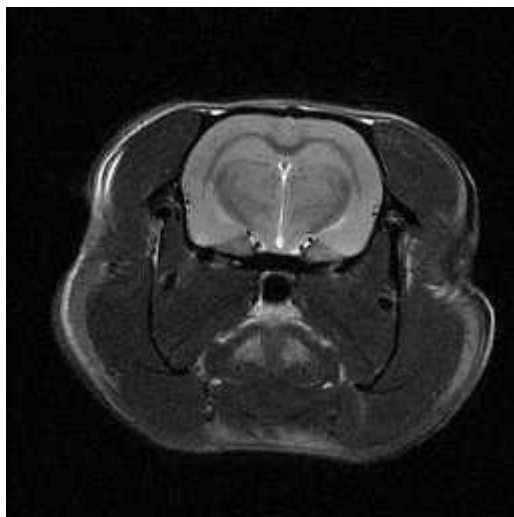


Figura 1.1. Ejemplo de corte transaxial de una *MRI* de rata.

Su característica más destacada es que no utiliza radiación ionizante para la adquisición de la imagen. Se basa en un fenómeno físico denominado *resonancia magnética nuclear (NMR)*, descubierto en 1945 por Damadian. Sin entrar en detalles, podemos decir que existen en la naturaleza algunos núcleos atómicos que son capaces de absorber y emitir energía electromagnética (ondas de radio) de una frecuencia concreta (resonancia) cuando se someten a un intenso campo magnético. Aunque hay varios elementos de interés biológico cuyos núcleos presentan el fenómeno de resonancia magnética (hidrógeno, fósforo, sodio, etc.), en los sistemas de imagen para uso clínico (humano) y preclínico (animal) se trabaja habitualmente con el núcleo de hidrógeno.

El funcionamiento de estos sistemas es bastante complejo: la muestra (el paciente) debe colocarse en el seno de un potente campo magnético constante, habitualmente generado mediante un electroimán superconductor. La muestra se ‘ilumina’ con impulsos de ondas de radio cuya frecuencia corresponde a la de resonancia del núcleo de hidrógeno. El efecto de la resonancia hace que los núcleos de hidrógeno devuelvan dicha energía en forma de onda de radio que es captada por una antena o bobina de recepción. Esta onda variará sus propiedades en función del entorno biológico del núcleo de hidrógeno proporcionando información de contraste. La información espacial necesaria para generar imágenes se introduce a base de modificar ligeramente el valor (módulo o fase) del campo magnético en función de la posición, mediante las llamadas

bobinas de gradiente de campo (véase Figura 1.2). Un ordenador reconstruye las imágenes a partir de esta información.

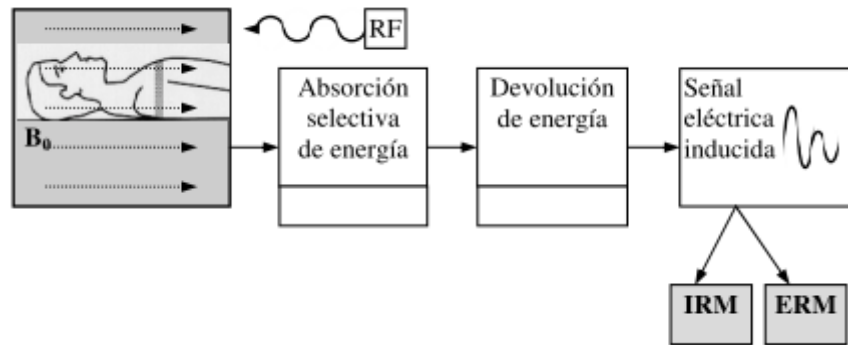


Figura 1.2. Esquema del proceso de obtención de imágenes y espectros de MR [5].

El análisis de las señales inducidas en la antena de recepción nos proporciona información sobre el contenido de los distintos elementos de volumen o vóxeles que forman el objeto de estudio.

El anglicismo *vóxel* proviene de la composición entre los términos “*V*olume” y “*pí*XE*L*”. Un *vóxel* es un elemento de volumen que contiene información gráfica asociada a un punto en un espacio tridimensional (véase Figura 1.3). Al igual que sucede con un píxel en un espacio con dos dimensiones, el vóxel es la mínima unidad de volumen que constituye un objeto en 3D. En una *MRI* cada píxel de la imagen representa la información contenida en el vóxel al que representa.

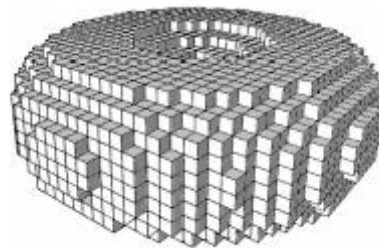


Figura 1.3. Figura tridimensional constituida por unidades elementales de volumen o vóxeles [5].

Existen distintos tipos de *MRI* según el fenómeno que domine en la formación de la onda de resonancia. A estas adquisiciones diferenciadas se las denomina secuencias, y se consiguen mediante la aplicación de distintos pulsos de radiofrecuencia, gradientes de campo magnético y modificación de los parámetros de contraste para potenciar o ponderar un determinado efecto a fin de maximizar el contraste entre tejidos específicos (Ver Figura 1.4). Las secuencias básicas son las siguientes:

- **DP:** *Densidad Protónica*. La intensidad del píxel de la imagen resultante es proporcional a la concentración de protones de hidrógeno del vóxel.
- **T1:** *Tiempo de relajación longitudinal*. La intensidad del píxel de la imagen resultante es proporcional a la concentración de protones de

hidrógeno y además depende del tiempo de relajación longitudinal que es diferente para cada tejido.

- **T2:** *Tiempo de relajación transversal.* La intensidad del píxel de la imagen resultante es proporcional a la concentración de protones de hidrógeno y depende del tiempo de relajación transversal que es diferente para cada tejido.

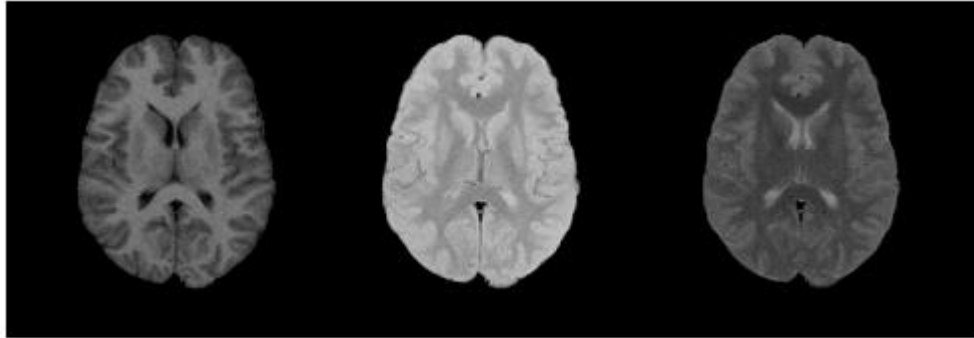


Figura 1.4. De izquierda a derecha, imágenes potenciadas en T1, DP y T2 [5].

El contraste de la imagen, seleccionando una potenciación en T1, DP o T2, se regula manejando los parámetros: a) *tiempo de repetición* (TR), que controla la cantidad de relajación longitudinal, y b) *tiempo de eco* (TE), que controla la cantidad de desfase de la componente transversal de la magnetización. La potenciación en T1 se obtiene combinando un TR corto y un TE largo; la potenciación en DP con un TR largo y un TE corto, y la potenciación en T2 con un TR largo y un TE largo.

Como se puede observar, el contraste proporcionado por la *MRI* depende de diversos factores de tipo bioquímico y de cómo se adquiere la imagen. Resulta sorprendente el elevado número de imágenes diferentes que se pueden obtener del mismo objeto, lo que por otro lado puede llegar a complicar su interpretación.

La *MRI* es probablemente la modalidad de imagen médica que genera más expectativas de aparición de nuevas aplicaciones. Existen pocas especialidades médicas en las que no se prevea alguna aplicación útil de la *MRI*, en algunos casos invadiendo lo que hasta ahora eran competencias de otras modalidades de imagen. Concretamente en el caso del cerebro, órgano de interés en este proyecto, la *MRI* es la modalidad idónea debido a su contraste en tejido blando.

La principal limitación actual en cuanto a la calidad de imagen de la *MRI* deriva de su relación señal/ruido, que establece un límite para la resolución. La vía utilizada para abordar este problema en estos últimos años ha sido el aumento de intensidad del campo magnético estático, de la radiofrecuencia aplicada y de los gradientes de campo. Existen varias estrategias técnicas que podrían aliviar este problema en un futuro próximo.

Los artefactos más comunes presentes en *MRI* son:

- Efecto de volumen parcial:

Ocurre cuando un mismo *vóxel* contiene diferentes tejidos. Está causado por la resolución espacial finita de los sistemas de resonancia magnética (*MR*). Cuando un *vóxel* representa a más de un único tejido, su nivel de intensidad será un promedio de ambos, ponderado por su concentración relativa dentro del *vóxel*. Este artefacto desdibuja los bordes de las estructuras afectadas como puede observarse en la Figura 1.5.

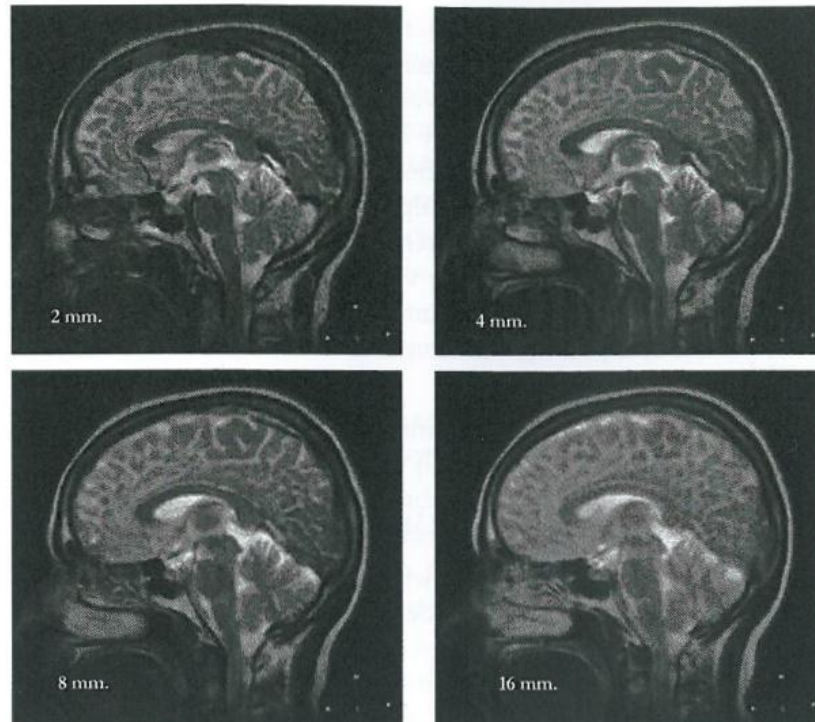


Figura 1.5. Adquisiciones con espesor de corte variable donde se puede observar cómo se difuminan los bordes según aumenta el espesor. Cuando una estructura pequeña está completamente contenida en el espesor de una rodaja con otros tejidos de diferente nivel de intensidad, la intensidad resultante es el promedio de las intensidades individuales, lo que puede provocar la desaparición de estructuras pequeñas en la imagen [6].

- Artefacto de Inhomogeneidad de Intensidad:

La *inhomogeneidad de intensidad* es una variación de baja frecuencia de la intensidad a lo largo de la imagen. La falta de homogeneidad en el campo de radiofrecuencia (*RF*) o B_1 provoca una variación suave de los niveles de intensidad a lo largo de la imagen. Este artefacto se debe, entre otras causas, a la atenuación que sufren las señales de *RF* al penetrar en la muestra bajo estudio. Su efecto es más acusado en equipos de *MR* de campo estático mayor, que utilizan señales de *RF* de frecuencia más alta. Algunas antenas, como las superficiales, tienen variaciones en su sensibilidad e incorporarán siempre este artefacto inherente a su diseño (Figura 1.6).

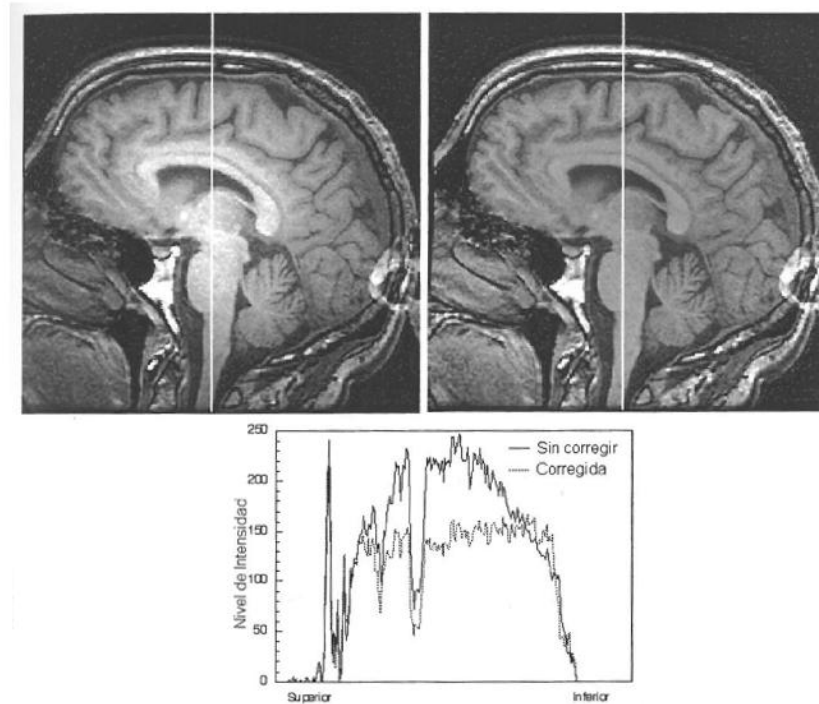


Figura 1.6. La imagen superior izquierda muestra una MRI con artefacto de inhomogeneidad de intensidad sin corregir. La MRI corregida puede verse en la imagen superior derecha. La gráfica interior representa la comparación entre el perfil de intensidades de la línea blanca de las imágenes sin corregir (línea continua superior) y corregida (línea punteada inferior). Las intensidades corregidas presentan una menor variación [7].

- Falta de homogeneidad de campo estático:

La falta de homogeneidad en el campo estático B_0 provoca distorsiones geométricas que pueden ser minimizadas mediante un calibrado del equipo de *MR* también conocido como técnicas de ‘*shimming*’ (imanes diseñados para homogeneizar el campo magnético). Es un efecto a considerar cuando se plantean estudios comparativos de imágenes en un mismo sujeto obtenidos en diferentes equipos. Se producen diferencias de intensidad de señal y geometría, lo cual dificulta la comparativa.

- Susceptibilidad magnética:

La susceptibilidad magnética es una propiedad física, inherente a cada material, que refleja la capacidad de éste para interferir sobre un campo magnético. En función de ésta, es posible efectuar una clasificación de las sustancias como diamagnéticas, paramagnéticas y ferromagnéticas. Las *sustancias diamagnéticas* son las que apenas interfieren en el campo, como el agua. Las *sustancias paramagnéticas* son capaces de modificar el campo magnético de forma moderada y se utilizan habitualmente como contraste para modificar la señal de *MR*. Las *sustancias ferromagnéticas* son las que más capacidad de interferencia presentan. Las interfaces entre dos sustancias con susceptibilidad magnética muy distinta, por ejemplo aire y hueso, dan

lugar a distorsiones geométricas y de intensidad en la imagen resultante. Otro ejemplo común es el efecto de un pequeño fragmento metálico, que es capaz de producir distorsiones geométricas importantes en una *MRI* (véase Figura 1.7).

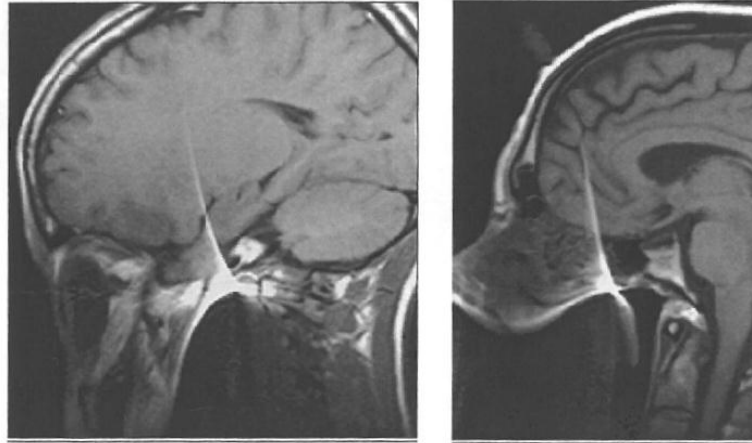


Figura 1.7. *Distorsiones geométricas causadas por un corrector dental (izquierda) y por un empaste metálico (derecha) [6].*

- *Aliasing* o solapamiento espectral:

Ocurre cuando el campo de visión es más pequeño que la muestra bajo estudio. En este caso, aparece un doblamiento o plegamiento de la parte de la muestra que no está incluida en el campo de visión. Ciertas secuencias, por ejemplo *SENSE* (*Sensitivity Encoding*) [8], utilizan de forma controlada este artefacto para reducir el tiempo de adquisición de la imagen mediante el uso de varias antenas (Figura 1.8).



Figura 1.8. *Los artefactos de solapamiento espectral o aliasing ocurren cuando parte de la anatomía cae fuera del campo de visión que se excita mediante los pulsos de RF. La verdadera posición de estos tejidos no se codifica en fase de forma correcta, lo que provoca el plegamiento de la imagen en el lado opuesto [7].*

- Ringin o artefacto de Gibbs:

Se origina en las transiciones de intensidad bruscas, como las interfaces entre grasa y músculo, o líquido cefalorraquídeo y médula. Se produce como consecuencia del truncado de los datos de adquisición (Figura 1.9).

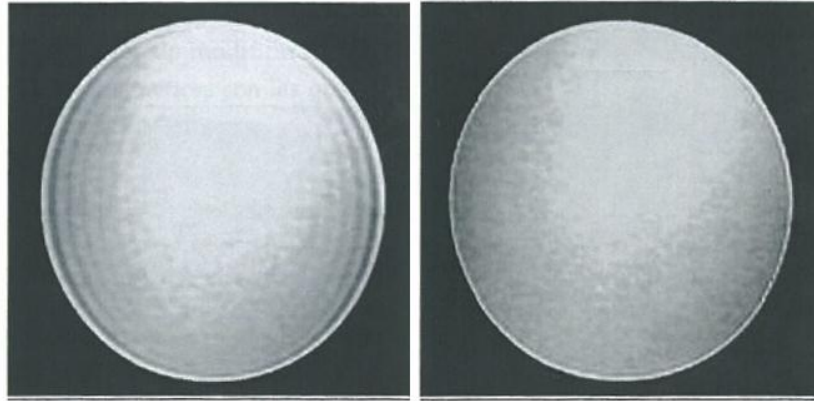


Figura 1.9. Las imágenes muestran un maniquí de agua rodeado por aire. La imagen izquierda se codificó con 128 niveles en la dirección horizontal y 256 en la vertical, y en ella se puede apreciar las líneas alternativamente claras y oscuras, más prominentes a medida que se aproximan al contorno horizontal del maniquí. La imagen inferior se codificó con 256 niveles en ambas direcciones. En ella el artefacto apenas se puede apreciar de forma uniforme en los contornos del maniquí [6].

- Desplazamiento químico:

Se produce como consecuencia de variaciones en la frecuencia de resonancia de los núcleos de hidrógeno debidas a su distinto entorno químico. Esta diferencia en la frecuencia de precesión produce un error de hasta varios vóxeles en la localización de la muestra durante la aplicación de los gradientes. El efecto en la imagen es un desplazamiento relativo artificial en estructuras contiguas que provoca un doble contorno (Figura 1.10).

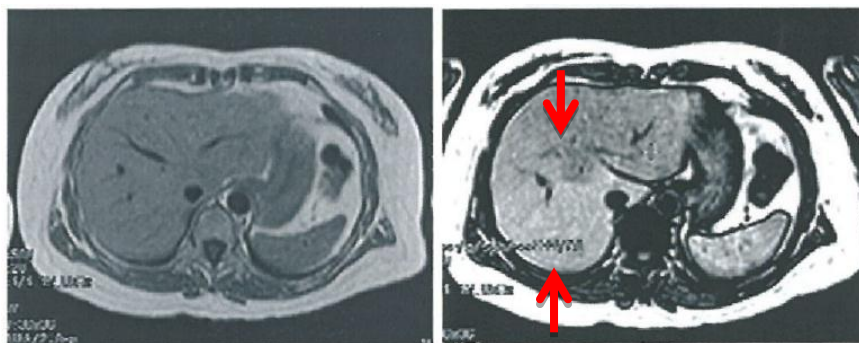


Figura 1.10. La imagen izquierda se adquirió mediante una secuencia convencional de eco de espín ponderada en T1. La derecha es una T1 con el agua y la grasa fuera de fase en la que se puede apreciar un área hipointensa en el hígado que indica una infiltración de grasa [7].

- Movimiento:

Artefacto causado por el cambio de posición de los tejidos entre el momento de excitación y relajación protónica. Los más frecuentes son involuntarios: respiratorio, cardíaco o de flujo (sanguíneo, líquido cefalorraquídeo, etc.). Los movimientos no periódicos, como los peristálticos o los involuntarios por parte del paciente, producen una degradación difusa de la imagen por dispersión de la señal (Figura 1.11). Los movimientos periódicos generan artefactos denominados ‘fantasma’ o *ghosting*, similares al artefacto de *ringing*. Otro tipo de artefacto de movimiento es el de flujo pulsátil, que se manifiesta como una réplica de la estructura pulsátil, por ejemplo la arteria carótida, en muchas secuencias. Sin embargo, la causa más importante de degradación de la imagen es el movimiento del paciente durante la fase de adquisición de los datos.

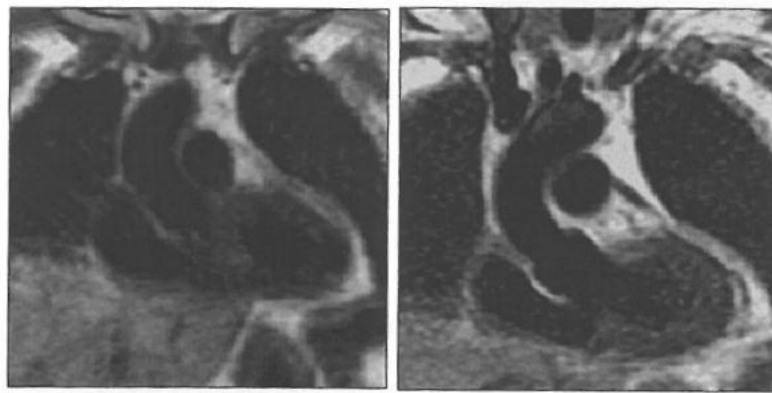


Figura 1.11. La imagen cardíaca de la izquierda se adquirió sin ningún tipo de compensación del movimiento y en ella se puede ver un emborronamiento de las estructuras cardíacas. La de la derecha se adquirió utilizando la señal del ciclo cardíaco para adquirir los datos en fase para cada periodo del tiempo de repetición (TR), lo que elimina el artefacto de movimiento de forma efectiva [6].

Desde un punto de vista práctico, las limitaciones actuales más importantes de la *MRI* derivan del elevado tamaño, peso y precio de la instrumentación, así como de las dificultades para la realización de exploraciones por su elevada duración y, sobre todo, coste. El avance más deseable sería el de simplificar y reducir el tamaño de los equipos, abaratando su coste, incrementando la resolución y generando tipos nuevos de contraste. Sin embargo, la reducción de tamaño no parece fácil; depende esencialmente de la disponibilidad de un campo magnético potente y homogéneo a partir de imanes de menor tamaño, hoy por hoy, difícil de lograr salvo aparición de algún factor tecnológico imprevisto. Las mayores esperanzas se depositan en los nuevos materiales superconductores a temperaturas más elevadas. No resulta verosímil, de momento, la posibilidad de un sistema *MRI* pequeño o incluso portátil, como pudiera ser un ecógrafo. Sin embargo, sí es previsible un aumento del número de equipos al bajar el coste, incluyendo la aparición de sistemas especializados, sobre todo para cardiología, neurología (e incluso neuropsiquiatría), medicina deportiva, etc. [4].

1.4 Segmentación

En imagen médica, a menudo es necesario realizar medidas sobre las imágenes adquiridas. Ya sea anatómica o funcional, la imagen proporciona información veraz acerca del paciente como: nivel de captación de un trazador, volúmenes de diferentes órganos o regiones, profundidad de una lesión, etc. En muchos de estos casos, el interés de la medida recae en una zona concreta de la imagen asociada a una región anatómica. Para poder hacer estas medidas se recurre entonces a lo que denominamos técnicas de segmentación.

La segmentación se define como la partición de una imagen en regiones constituyentes (también denominadas clases o subconjuntos), las cuales son homogéneas respecto a una o más características tales como intensidad, textura o funcionalidad [9]. Uno de los casos de uso típicos de la segmentación es la distinción de zonas neuroanatómicas, en las que se emplea con el fin de separar zonas de interés cerebral como: hipocampo, corteza frontal, áreas del lenguaje, entre otras [10].

Una vez la imagen se ha segmentado, las medidas anatómicas o funcionales pueden ser realizadas en dichas zonas a partir de descriptores de la imagen como intensidad o volumen. Toda esta información es de gran utilidad para el clínico que la emplea en seguimiento de pacientes y su diagnóstico.

1.4.1 Dificultades para la segmentación

Dependiendo del tipo de imagen que se adquiriera así como de su distribución de valores y relación con los elementos físicos y funcionales que pretendamos medir, el proceso de segmentación conlleva importantes aspectos a tener en cuenta. Además, si pretendemos el empleo de técnicas automáticas, las condiciones y requisitos cambiarán dependiendo del tipo de imagen. En este entorno, la segmentación automática de imágenes de resonancia magnética ha sido durante años, y sigue siendo en la actualidad, uno de los temas de gran interés en el análisis de imagen médica. Esto es debido a la enorme dificultad que conlleva el desarrollo de algoritmos de segmentación automática que sean exactos, repetibles y eficaces. Las *MRI* presentan una serie de características y artefactos derivados de la propia tecnología de adquisición que dificultan la clasificación de los vóxeles de forma sencilla. Estos artefactos pueden deformar la imagen real e, incluso, simular efectos patológicos. Una breve descripción de los mismos puede encontrarse en el apartado 1.1.1 de esta sección.

A continuación se describen con mayor detalle las estrategias seguidas en la literatura para superar los tres principales problemas en la segmentación de *MRI*: el efecto de volumen parcial, el artefacto de inhomogeneidad de intensidad y la dificultad para incluir información a priori.

- **Efecto de volumen parcial:**

Es frecuente que algunos de los vóxeles de la imagen contengan una mezcla de diversos tipos de tejidos debido a la resolución limitada por la modalidad de imagen. En estos casos, su nivel de intensidad es proporcional a la de los tejidos

puros ponderadas por su concentración relativa (Figura 1.12). El impacto de este artefacto en la segmentación de tejidos cerebrales fue estudiado por Niessen [11], quien demuestra que un error en la localización de los bordes de los tejidos de un vóxel en una *MRI* con tamaño de vóxel de 1 mm^3 resulta en un error en el volumen de las sustancias blanca, gris y líquido cefalorraquídeo de aproximadamente el 30, 40 y 60%, respectivamente. Consecuentemente, los métodos de segmentación que asignan los vóxeles de volumen parcial a un único tipo de tejido no parecen ser los más adecuados cuando se trabaja con imágenes de baja resolución.

Se han propuesto diferentes métodos para modelar expresamente este artefacto durante la etapa de segmentación. Santiago y Gage dedujeron la distribución de probabilidad teórica de la intensidad para los vóxeles de volumen parcial, suponiendo que la distribución de intensidad de los tejidos puros estuviese gobernada por una distribución normal, lo cual es generalmente cierto en *MRI* [12, 13]. Su trabajo fue continuado por Laidlaw, quien derivó la función de densidad de probabilidad de cada tejido para cada vóxel, a partir del entorno de éste [14]. En Ruan et al., [15] se incluyó la varianza de los tejidos en el modelo de volumen parcial. Estos modelos parten de la suposición de que la probabilidad de cada tejido en cada vóxel es idéntica, en oposición al trabajo de Choi et al., quienes consideran que las proporciones varían suavemente en las imágenes [16].

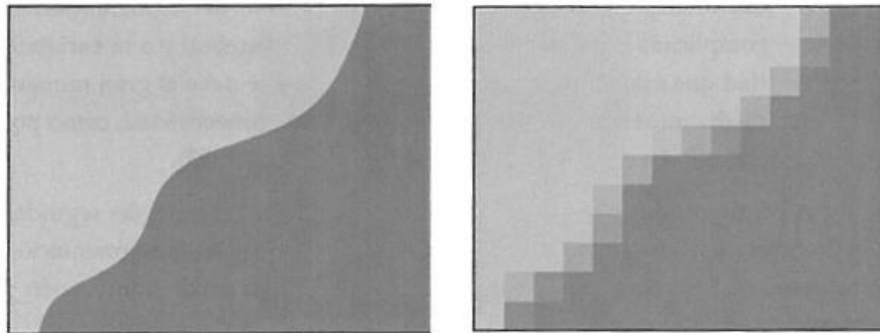


Figura 1.12. Ejemplo de efecto de volumen parcial. La imagen de la izquierda representa la frontera entre dos tipos de tejido, muestreados a alta resolución. La imagen de la derecha muestra la misma figura a una menor resolución espacial. Puede observarse cómo aparecen niveles de gris en la frontera entre los dos tejidos inexistentes en la imagen original [7].

- **Inhomogeneidad de intensidad:**

Otro problema en la segmentación de *MRI* deriva del artefacto de falta de homogeneidad de campo de *RF*, también denominado artefacto de iluminación, o inhomogeneidad de intensidad (*Intensity InHomogeneity field*, en adelante *IIH*) ya que provoca una variación suave de los niveles de intensidad a lo largo de la imagen. Este artefacto afecta especialmente a aquellos algoritmos de segmentación que suponen que el nivel de intensidad de cada tejido es constante a lo largo de toda la imagen (Figura 1.13).

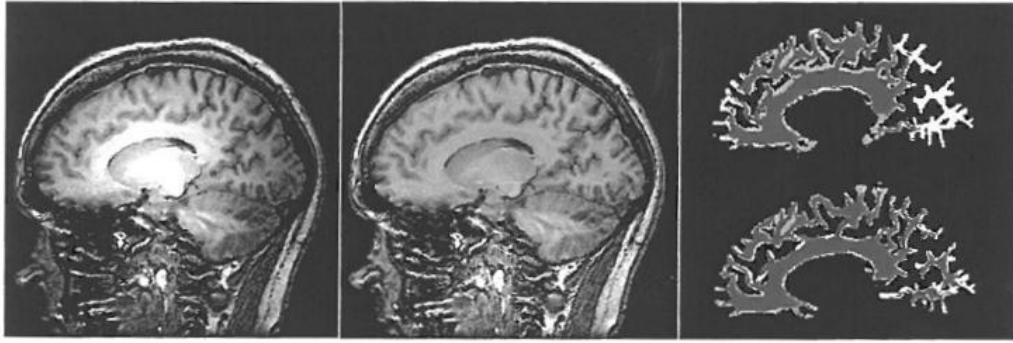


Figura 1.13. Ejemplo del artefacto de falta de homogeneidad de campo de RF en la segmentación de imágenes cerebrales. En la imagen de la izquierda se puede apreciar la variación en los niveles de intensidad, corregida en la imagen del centro. La figura de la derecha representa el efecto de este artefacto en una segmentación de la sustancia blanca por umbral, en la que los vóxeles blancos son aquéllos incorrectamente clasificados. Se puede apreciar cómo la segmentación de la imagen previamente corregida (derecha, abajo) presenta un error de clasificación menor [6].

Las causas del *IIH* pueden dividirse en dos grupos según su origen:

- 1) Relacionadas con las propiedades del dispositivo de adquisición de imagen y de su inhomogeneidad de campo estático B_0 .
- 2) Debidas a la falta de uniformidad en la sensibilidad de las antenas de emisión y recepción de RF.

Las primeras pueden solventarse mediante técnicas de ‘*shimming*’, secuencias especiales o diferentes tipos de antenas, o incluso calibrando el dispositivo mediante maniqués o modelos matemáticos.

Las segundas se relacionan con el objeto del que se extrae la imagen: forma, posición, orientación dentro del imán y propiedades dieléctricas y de permeabilidad magnética. Los equipos de *MR* que utilizan un mayor campo estático trabajan con señales de RF de mayor frecuencia, que sufren una mayor atenuación en la muestra, lo que provoca una mayor magnitud del artefacto de iluminación. Además, como esta atenuación depende de cada muestra bajo estudio, no es posible realizar una calibración del equipo de adquisición de *MR* como se efectúa, por ejemplo, en el caso de la falta de homogeneidad del campo estático (primer grupo de clasificación) [17]. Por ello, se utilizan algoritmos matemáticos *a posteriori* que eliminan el artefacto de las imágenes una vez han sido adquiridas.

En la literatura aparecen diversas alternativas para la segmentación en presencia de este artefacto. Algunos métodos utilizan una operación de filtrado previo a la clasificación propiamente dicha [18]. Otra alternativa que ha tenido mayor éxito consiste en segmentar la imagen y estimar el campo de no homogeneidad de forma simultánea. Estos métodos generalmente modelan la iluminación como un campo multiplicativo para todos los tejidos presentes [19], a excepción de Rajapakse *et al.*, quienes lo modelan de forma independiente para cada tejido [20].

Dos de los métodos existentes se emplearán en este proyecto:

- **N3** (*Nonparametric Nonuniformity Normalization*):

Método iterativo que estima el artefacto *IIH* maximizando la componente de alta frecuencia en la distribución propia de la imagen. Es automático, no requiere información *a priori* y se puede aplicar a cualquier *MRI* [21]. Sin embargo, requiere de la optimización de unos parámetros dependientes del tipo de imagen que se pretende corregir.

- **CO2** (*Dual COil Inhomogeneity COrrrection*):

Método basado en la utilización de dos adquisiciones previas ponderadas en densidad protónica (*DP*) para la posterior corrección de *MRI* ponderadas en *T2* o *T1*. Especialmente diseñado para imágenes de pequeño animal [22].

La literatura en este campo es mucho más extensa en lo que respecta a la publicación de nuevos métodos que a la validación y comparación de resultados entre ellos. Dos excepciones son estudios comparativos muy completos de Arnold *et al.*, (2001), quienes evalúan sobre imágenes sintéticas seis métodos de corrección del artefacto de iluminación, y Velthuisen *et al.*, (1998), que estudian la influencia de la corrección de homogeneidad en la volumetría de tumores cerebrales [23, 24]. Sin embargo, la inmensa mayoría de publicaciones tratan imágenes de humano, y muy pocos abordan los problemas concretos de la imagen de pequeño animal, donde el *IIH* se acentúa por sus características de adquisición.

- **Inclusión de información a priori:**

Cuando un radiólogo examina una *MRI* cerebral es capaz de reconocer las diferentes regiones cerebrales e identificar anomalías como tumores o hemorragias. Este tipo de análisis cualitativo es posible gracias a los conocimientos previos que pone en práctica el radiólogo en la inspección visual de *MRI*. Precisamente, los métodos basados en atlas y, en menor medida, los que utilizan campos aleatorios de Markov (*Markov Random Fields*, *MRF*) pretenden incluir en la segmentación parte de este conocimiento *a priori* imitando dicho comportamiento.

Los *MRF* incluyen información del vecindario de cada *vóxel* controlando las fronteras entre determinados tejidos [25]. Este método impide que dos *vóxeles* vecinos se clasifiquen como dos tipos de tejido que se sabe es imposible que puedan estar en contacto. Diversos métodos de segmentación de *MRI* utilizan esta estrategia, generalmente para refinar una clasificación previa [26]. Sin embargo, su utilidad práctica está limitada por una serie de factores, como el reducido vecindario que son capaces de procesar en un tiempo razonable. Además, la anatomía cerebral es complicada y establecer qué tejidos no pueden estar en contacto en todo el volumen cerebral no es trivial.

Los métodos de segmentación basados en atlas o patrones estadísticos son capaces de incluir información global de todo el volumen a segmentar, sin limitarse al vecindario de los *vóxeles* como el caso anterior. El atlas proporciona información acerca

de la distribución espacial de los tejidos cerebrales (Figura 1.14). Éste se construye recopilando información de la anatomía de diversos sujetos, para posteriormente utilizarlo como marco de referencia en la segmentación de nuevas imágenes, previa alineación espacial con el atlas de referencia (proceso denominado registro). Sin embargo, dicho atlas puede no ser representativo de las poblaciones a las que se va a aplicar, por no compartir las mismas características morfológicas. Esto es de especial relevancia cuando se segmentan cerebros con alteraciones anatómicas debidas a la patología bajo estudio. Además, este tipo de información espacial no siempre está disponible. Un claro ejemplo en preclínica es la escasez o ausencia de este tipo de mapas para las diferentes razas de rata y ratón.

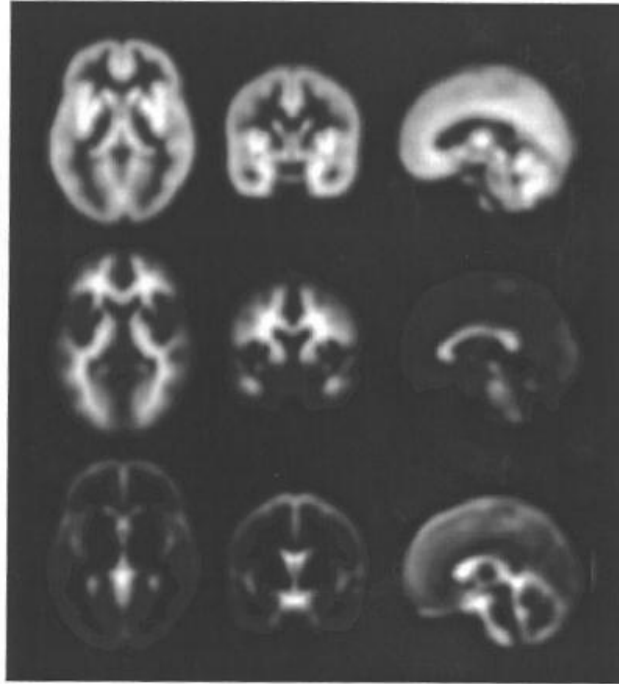


Figura 1.14. *Patrón estadístico anatómico del Montreal Institute of Neurology que proporciona información sobre la distribución espacial de la sustancia gris (arriba), blanca (medio) y líquido cefalorraquídeo (abajo) [7].*

1.4.2 Métodos de segmentación

El análisis y clasificación automática de imágenes, en general, se basa en las características de la imagen. Éstas son, fundamentalmente, dos: la intensidad de señal de los píxeles y su disposición geométrica en la imagen. De estas características, la intensidad es probablemente la más utilizada, junto a la información de contornos que nos proporciona conocimiento acerca de las fronteras existentes entre los distintos objetos de la imagen.

Las técnicas basadas en intensidad basan su funcionamiento en el supuesto de que un tipo de tejido tiene un brillo característico y propio. Esto generalmente no es cierto, por lo que no es posible segmentar únicamente mediante estas técnicas, siendo necesario un posterior post-proceso para eliminar regiones con una intensidad similar a la del objeto de interés que no pertenezcan a éste.

En la literatura sobre segmentación de *MRI*, los métodos suelen dividirse en dos categorías: métodos *monoespectrales*, si existe una sola adquisición o modalidad de imagen, y *multiespectrales*, si utilizan una o varias imágenes con características diferentes pero con correspondencia geométrica (véase el apartado 1.4) para un mismo volumen anatómico (Figura 1.15).

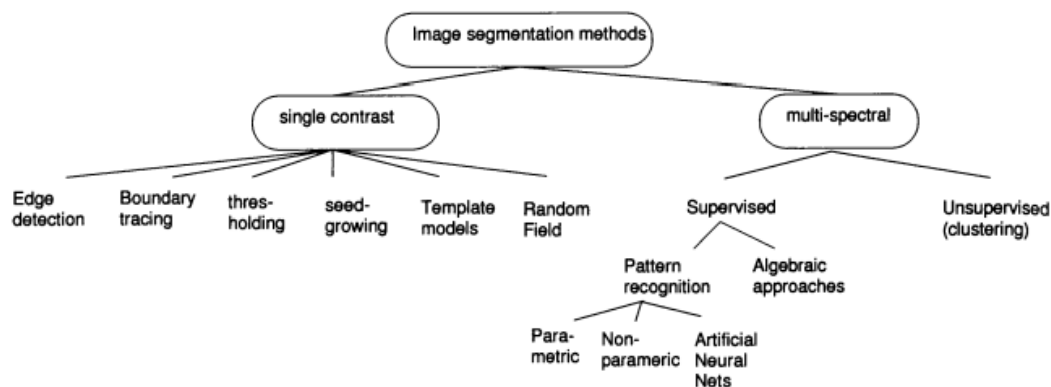


Figura 1.15. Una clasificación de los métodos de segmentación disponibles en la literatura [27].

En general, los métodos de segmentación de *MRI* cerebrales pueden clasificarse en nueve grupos:

- 1) Segmentación manual.
- 2) Umbralización.
- 3) Detección de contornos.
- 4) Crecimiento de regiones.
- 5) Clasificadores o métodos de *clustering*.
- 6) Campos aleatorios de Markov.
- 7) Redes neuronales artificiales.
- 8) Modelos deformables.
- 9) Métodos basados en atlas neuroanatómicos.

Segmentación manual

El método más inmediato de segmentación consiste en efectuar una delimitación manual de las estructuras de interés. Éste es un método de los denominados supervisados, ya que es necesario un operador entrenado que realice o valide la segmentación, asegurando que ésta presenta una buena calidad. La segmentación manual tiene dos inconvenientes: la alta variabilidad que muestra cuando se realiza repetidamente y la gran cantidad de tiempo necesaria para efectuarla. Estos inconvenientes varían en función de la modalidad de imagen a segmentar. A modo de ejemplo, la variabilidad inter-operador puede oscilar de un 7% a un 21%, mientras que en el caso de la intra-operador se dan cifras entre un 4% y un 11% [28]. Debido a esta variabilidad es aconsejable que la segmentación la efectúen varios operadores obteniendo así un resultado más fiable y repetible.

Sin embargo, a pesar de los problemas de reproducibilidad y eficiencia, la segmentación manual sigue siendo la que proporciona una mayor fiabilidad, ya que pone en práctica todo el conocimiento previo del operador. Por ello, en la práctica, suele utilizarse como referencia o '*gold-standard*' cuando se desea determinar la calidad de otro método de segmentación.

Umbralización

La umbralización es una de las técnicas más sencillas y, tal vez por ello, más utilizada en la segmentación de imágenes en general. Consiste en la determinación de unos umbrales que delimitan el rango de intensidades que caracterizan y discriminan los distintos objetos de la imagen. La umbralización manual suele ser una herramienta fundamental en la segmentación de imágenes. Sin embargo los métodos de umbralización por sí solos no suelen ser suficiente para seleccionar correctamente un objeto de la escena, por lo que suelen utilizarse en conjunto con otras técnicas que aporten información adicional.

Algunas de las técnicas más conocidas están basadas en el histograma (función de densidad de probabilidad de los niveles de intensidad de la imagen) como la umbralización bimodal, por porcentajes, por coincidencia de contornos o el método de Otsu [29].

Detección de contornos

Las técnicas basadas en la detección de contornos utilizan las fronteras de separación entre distintos tejidos para llevar a cabo la segmentación. Existen muchos detectores de contornos, entre los cuales los más populares son el 'Sobel', 'Prewitt', 'Gradiente', 'Laplaciano' (Figura 1.16), 'Canny', Marr/Hildreth o combinaciones de éstos.

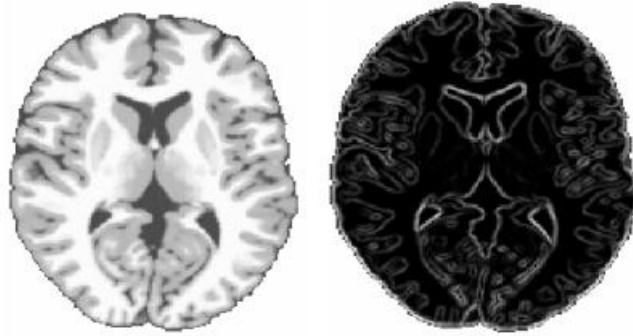


Figura 1.16. Ejemplo de MRI y la imagen de contornos asociada [5].

Todos ellos tienen como objetivo seleccionar aquellos píxeles de la imagen que delimitan la frontera del objeto/s de interés. Estos detectores de bordes generan información utilizada por otras técnicas de selección de objetos como, por ejemplo, los contornos activos o *snakes*. Los contornos activos son curvas paramétricas con unos puntos de control que se pueden mover para ajustarse a la forma del órgano o tejido. Los movimientos de dichos puntos son dirigidos normalmente por condiciones de máximo gradiente y restricciones de continuidad y curvatura y suelen emplearse para la segmentación de estructuras concretas (ventrículos, lesiones, etc.). La posición inicial de los puntos de control suele ser manual (Figura 1.17).

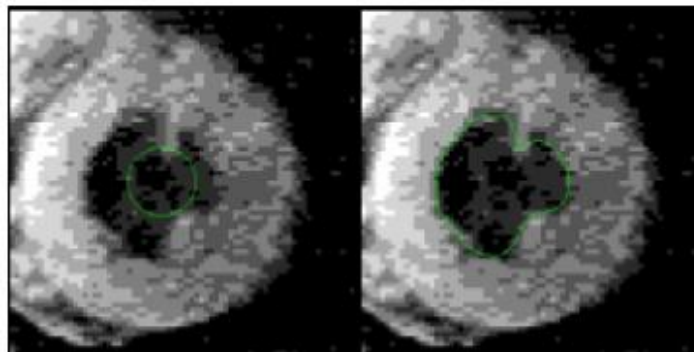


Figura 1.17. Ejemplo de segmentación mediante snakes. A la izquierda se muestra la curva inicial y a la derecha el resultado final en una delimitación de la cavidad ventricular izquierda del corazón [5].

Crecimiento de regiones

El crecimiento de regiones es una técnica muy sencilla que suele utilizarse, al igual que la umbralización, como apoyo en la segmentación manual de imágenes. Consiste en la selección de un punto semilla en la imagen alrededor del cual se van añadiendo nuevos píxeles que cumplen las condiciones de inclusión, como niveles umbral, forma, o nivel de contacto geométrico.

Suele emplearse para la selección de regiones homogéneas en las imágenes, tales como placas de esclerosis múltiple o lesiones. Podemos ver un ejemplo en la Figura 1.18.

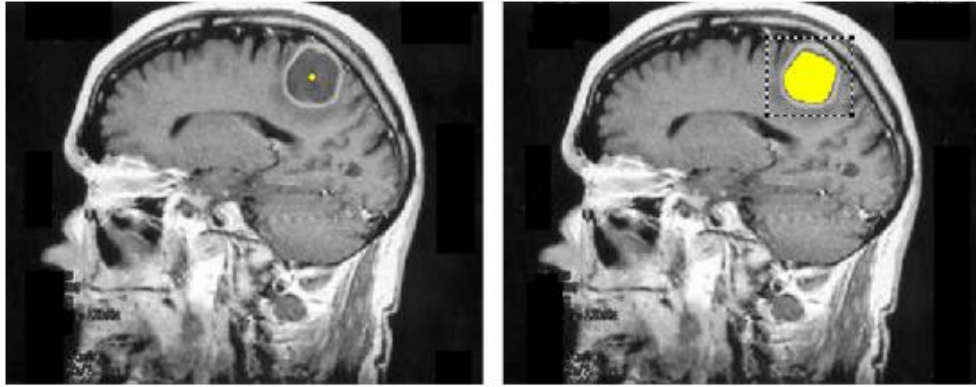


Figura 1.18. Ejemplo de crecimiento de regiones. A la izquierda se puede ver la semilla inicial y a la derecha el resultado del crecimiento de la región entorno a dicha semilla en un caso en el que se delimita el área quística central de una lesión cerebral [5].

Clasificadores o *Clustering*

El *clustering* es una familia de clasificadores no supervisados que organizan los datos en función de la propia estructura de los mismos. Esta agrupación se realiza en base a un proceso iterativo que trata de cumplir unos criterios de homogeneidad intraclase.

La finalidad del *clustering* es determinar las agrupaciones intrínsecas de un conjunto de datos sin etiquetar. Para ello utiliza criterios de homogeneidad que suele basarse en el uso de distancias (generalmente la euclídea). Las técnicas más utilizadas en el contexto de la segmentación de imágenes son: *K-means*, *Fuzzy C-means* y mezcla de Gaussianas.

Campos aleatorios de Markov

Los campos aleatorios de Markov (*MRF*) no son propiamente un método de segmentación, sino un modelo estadístico que puede utilizarse conjuntamente con otros métodos de segmentación. Modelan las interacciones espaciales entre vóxeles vecinos o cercanos que proporcionan un mecanismo para modelar varias propiedades de las imágenes. En *MRI*, se emplean habitualmente para tener en cuenta el hecho de que la mayoría de vóxeles que pertenecen a una clase son vecinos.

Los *MRF* se aplican frecuentemente a algoritmos de segmentación por *clustering*. La segmentación se obtiene al maximizar la probabilidad a posteriori de una clasificación, dada la imagen original, mediante métodos iterativos. Esta técnica presenta dificultades como, por ejemplo, la correcta selección de los parámetros que controlan las interacciones espaciales y su alto coste computacional.

Redes neuronales artificiales

Son redes paralelas de elementos o nodos que simulan el aprendizaje biológico, también conocidas como *ANN* (*Artificial Neural Network*). Cada nodo es capaz de efectuar operaciones elementales, de modo que el aprendizaje se consigue mediante la

adaptación de los pesos asociados a las conexiones entre los nodos. En la segmentación de *MRI* se emplean principalmente como clasificadores, en los que los pesos se establecen en la fase de entrenamiento, para posteriormente utilizar la red neuronal para la segmentación de nuevos casos. También pueden ser utilizadas de modo no supervisado como método de *clustering*. Dada la gran cantidad de interconexiones que se emplean en las redes neuronales, es fácil incorporar la información espacial en los procedimientos de clasificación. Sin embargo, a pesar de que son inherentemente paralelas, se implementan habitualmente en algoritmos no concurrentes, lo que limita esta ventaja computacional.

Modelos deformables

Son técnicas para la delineación de las fronteras entre tejidos mediante superficies cerradas deformables. Estas superficies se ajustan a los contornos de la imagen mediante la acción de fuerzas internas y externas. Para ello es necesario colocar la curva o superficie cerca de la frontera de interés, y después emplear métodos de relajación que permitan la localización iterativa de los contornos.

Sus principales ventajas son la capacidad de crear inherentemente superficies cerradas a partir de las imágenes y la incorporación de un criterio de suavidad que proporciona robustez frente al ruido o bordes espurios. Como desventaja incluye la necesidad de interacción manual para localizar la superficie inicial y para escoger los parámetros, lo que redundará en una alta dependencia del resultado final respecto a la inicialización del algoritmo.

Atlas Neuroanatómicos

Los métodos de segmentación basados en atlas o patrones estadísticos constituyen una herramienta muy potente para introducir información *a priori* en la segmentación de *MRI*. Un atlas recoge la localización espacial de los diferentes tejidos o estructuras en un cerebro ‘promedio’ denominado *atlas*. El atlas debe, por lo tanto, ponerse en correspondencia espacial (*registro*, véase capítulo 1.4) con las imágenes individuales para aplicar esta información de forma correcta. De este modo es posible efectuar conjuntamente la segmentación y el etiquetado de las regiones cerebrales en un solo paso [30]. En un patrón estadístico se recoge la probabilidad de que un cierto vóxel pertenezca a un tejido específico, no en función de su nivel de intensidad como en casos anteriores, sino en función de su localización espacial. Por lo tanto, la información espacial que aportan los atlas es independiente del nivel de intensidad de los vóxeles. Sin embargo, para obtener dicha información espacial, se utiliza un algoritmo de registro que sí puede depender de la intensidad. Este tipo de métodos convierten el problema de la segmentación en uno de registro de imágenes contra el atlas. Dada la variabilidad anatómica del cerebro, este registro se implementa normalmente de forma elástica, mediante campos de deformación definidos por un gran número de parámetros. Además, estos campos de deformación permiten el estudio morfométrico de las *MRI*, objetivo final de la segmentación.

1.5 Registro de imagen

Debido a los importantes avances en la tecnología dedicada a las imágenes médicas, surge la necesidad de poder establecer concordancia espacial punto a punto entre las diferentes imágenes (de distinta o misma modalidad) de forma que sea posible la comparación directa entre ellas. A este proceso se le denomina *registro* y, una vez realizado, pueden visualizarse las imágenes de manera conjunta integrando los datos de ambas, denominándose *fusión* a este proceso [31]. Esta técnica ha resultado ser útil en diversas aplicaciones, no sólo proporcionando información que ayuda en el diagnóstico, sino también en la planificación y seguimiento de la terapia, cirugía y radioterapia [32].

Existen diversos criterios para clasificar los distintos algoritmos de registro. Se emplean los términos *intramodalidad* e *intermodalidad* según se empleen estudios de la misma o diferentes modalidades, así como *intra* e *intersujeto* según provengan del mismo o distintos pacientes.

1.5.1 Transformaciones geométricas y registro

Aplicar una transformación geométrica a una imagen consiste en modificar las coordenadas de sus vóxeles. De esta forma, cada punto se traslada a una nueva coordenada y la imagen original queda modificada. Según la transformación que se emplee en el proceso, la deformación será mayor o menor. La transformación que resulte adecuada dependerá del tipo de problema que se trate resolver. Por tanto, las técnicas de registro se pueden clasificar del siguiente modo:

- Transformaciones rígidas: son aquéllas en las que se traslada y rota la imagen original, conservando todas las distancias. En tres dimensiones, supone tres traslaciones y tres rotaciones, por lo que también se denominan transformaciones de 6 parámetros. Este tipo de transformación es el que se requiere para registrar imágenes de la misma o distinta modalidad del mismo paciente.
- Transformaciones rígidas con escalado: se trata de un caso igual que el anterior, pero añadiendo un escalado o *zoom*, ya sea global en toda la imagen, o diferente para cada una de sus dimensiones. En el primer caso se trata de una transformación de 7 parámetros, y en el segundo de 9.
- Transformaciones afines: la imagen transformada cumplirá como único requisito respecto a la original que las líneas paralelas sigan siéndolo una vez transformadas. Esto se representa mediante 12 parámetros. Al permitir más flexibilidad, este tipo de transformación se emplea en algunos casos para registro de imágenes de diferentes pacientes.
- Transformaciones de perspectiva: como su nombre indica, representan un cambio de perspectiva en la imagen, y se representan por 15 parámetros. El único requisito que cumplen es que las líneas rectas lo siguen siendo tras la transformación. Tienen pocas aplicaciones en el campo del registro de imágenes médicas, aunque sí en otros campos, como la teledetección.

- Transformaciones elásticas: al contrario que todas las anteriores, este tipo de transformaciones no son lineales, y permiten deformar una imagen para que se parezca a la imagen de referencia. Su uso se está ampliando para modelar las diferencias entre sujetos, registrar estudios con un atlas de referencia o representar las modificaciones debidas al desplazamiento de los órganos durante la cirugía.

En la Figura 1.19 se muestra un ejemplo en dos dimensiones de cada una de las transformaciones descritas.

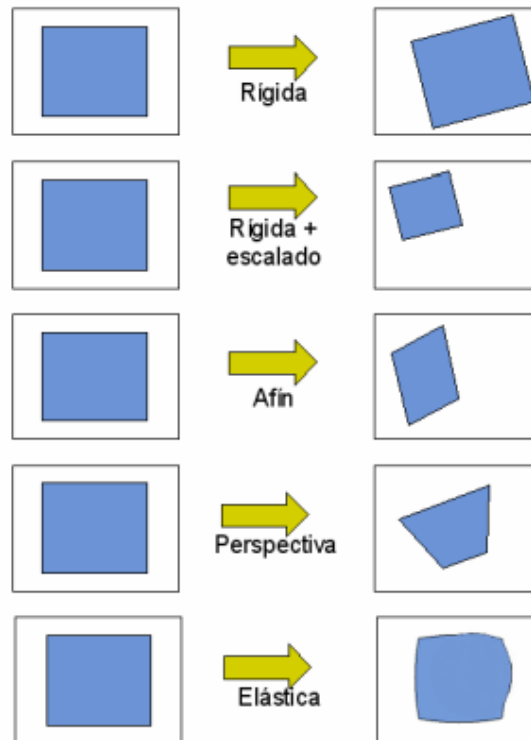


Figura 1.19. Ejemplos de diferentes tipos de transformación geométrica en dos dimensiones [31].

1.5.2 Métodos de registro

Como se ha explicado, el objetivo del proceso de registro es obtener la transformación geométrica que pone en concordancia espacial una pareja de imágenes. Aparte del tipo de transformación utilizada, de entre las enumeradas en el apartado anterior, otro factor importante es el método que se empleará para encontrar esta transformación. De acuerdo con su naturaleza se pueden clasificar en:

- Métodos de características equivalentes: se basan en localizar puntos equivalentes en cada una de las imágenes a registrar. A partir de sus coordenadas, que representan la misma posición en el paciente, se puede calcular la transformación que registrará los dos estudios. Estos puntos se

obtienen empleando marcadores artificiales o características anatómicas de las imágenes.

- Métodos basados en estructuras segmentadas de la imagen: consiste en emplear como marcadores estructuras extraídas automática o semiautomáticamente de las imágenes. Si se segmentan superficies equivalentes en varias imágenes, se puede calcular el registro entre ellas haciendo coincidir las superficies segmentadas.
- Métodos volumétricos: se basan en la presunción de que algún tipo de combinación aritmética de los vóxeles de las imágenes suministra una medida del parecido entre ellas, que alcanza un valor óptimo cuando las imágenes están alineadas.

Todos los algoritmos de registro se componen de tres bloques. En primer lugar está el modelo de deformación, que determina el conjunto de deformaciones que pueden realizarse a lo largo del algoritmo para registrar las imágenes. En el caso de registro rígido, el modelo de deformación consiste en todas las transformaciones rígidas antes mencionadas. De esta forma se establecen las deformaciones o transformaciones que sufrirá la imagen original para registrarse con la imagen de referencia.

Otro de los componentes más importantes es la función de coste. Esta función tiene como operandos las dos imágenes y la transformación aplicada para registrarlas. Toma un valor mínimo cuando las imágenes están registradas. Dependiendo del algoritmo de registro utilizado, la función de coste podrá estar basada en diferentes características de la imagen. Una de las más utilizadas es la *Información Mutua Normalizada (NMI)*, que devuelve un valor relacionado con la relación de intensidades entre ambas imágenes. A medida que las imágenes se registran en el espacio, la función de coste varía alcanzando un valor máximo o mínimo en la posición de registro.

Finalmente, el último componente es la optimización de la función de coste. Al igual que con la función de coste, los algoritmos de optimización disponibles son extensos en la literatura. Entre los más utilizados están Powell y Simplex [33, 34]. Estos algoritmos de optimización nos permiten crear el proceso iterativo con los otros dos componentes para extraer la transformación (dentro del modelo de deformación) que minimiza la función de coste para las imágenes.

CAPÍTULO 2

2. OBJETIVOS

Los objetivos principales de este proyecto se detallan a continuación.

- Estudio de las diferentes alternativas disponibles en la literatura científica para procesar imágenes de resonancia magnética preclínica (rata y ratón), con el fin de segmentar automáticamente el área que se corresponde con tejido cerebral.
- Implementación de un método de segmentación automático de tejido cerebral, basado en registro, de *MRI* de pequeño animal denominado *SBR* (*Small animal Brain extraction using Registration*).
- Validación del algoritmo *SBR* en imágenes reales, empleando como referencia máscaras de segmentación manuales.
- Comparación entre métodos manual, *SBR* y, a su vez, con un reciente algoritmo basado en un tipo de red neuronal denominada *PCNN* (*Pulse Coupled Neural Network*), propuesto específicamente para *MRI* de rata.

CAPÍTULO 3

3. ESTADO DEL ARTE

Este capítulo se centra en la revisión de diferentes tipos de algoritmos de segmentación de tejido cerebral para imagen de humano y pequeño animal disponibles en la literatura.

3.1 Antecedentes en segmentación

El área de la segmentación de imágenes, especialmente del cerebro, ha sido una de las que más esfuerzo y recursos ha ocupado. Esta increíble cantidad de trabajo llevada a cabo por la comunidad científica no ha conseguido la solución completa del problema si bien se ha avanzado mucho. Las razones de esta situación son varias. De entre ellas cabe destacar la enorme complejidad del problema y la multiplicidad de situaciones experimentales. Es por esto que el desarrollo de métodos robustos frente a variaciones en las condiciones experimentales es un objetivo fundamental para que estos métodos puedan utilizarse en entornos clínicos y preclínicos. Además, las técnicas son muy dependientes del objetivo planteado, siendo por lo tanto necesario diseñar métodos orientados a la patología y a la medida a obtener.

Para solventar este problema han aparecido diferentes métodos de segmentación semiautomáticos y automáticos en *MRI* cerebral humana [35-43]. En general, pueden clasificarse en métodos basados en regiones o basados en bordes, los cuales emplean la intensidad de la imagen o el gradiente, respectivamente, para distinguir diferentes tejidos dentro de las imágenes.

En *MRI* de humanos, el tejido no cerebral es fácilmente separable debido al diferente nivel de señal producido por esta técnica en la imagen. Además, el espacio entre el cerebro y los tejidos colindantes es lo suficiente grande como para provocar un gradiente acentuado entre dichos tejidos. Debido a estas características, las técnicas basadas en regiones o bordes son adecuadas para la segmentación cerebral total de cerebro en *MRI* humana.

Desafortunadamente, los algoritmos de extracción de cerebro en humanos no pueden aplicarse directamente en pequeño animal si se quieren obtener buenos resultados. En el caso de rata y ratón, el cerebro es mucho más pequeño que el cerebro humano y la relación señal ruido es mucho menor. El cerebro de un roedor es más alargado en la dirección anterior-posterior que el cerebro humano (Figura 3.1) y su geometría varía de forma significativa tanto en el eje anterior-posterior como en el superior-inferior (Figura 3.2) en función de la especie.

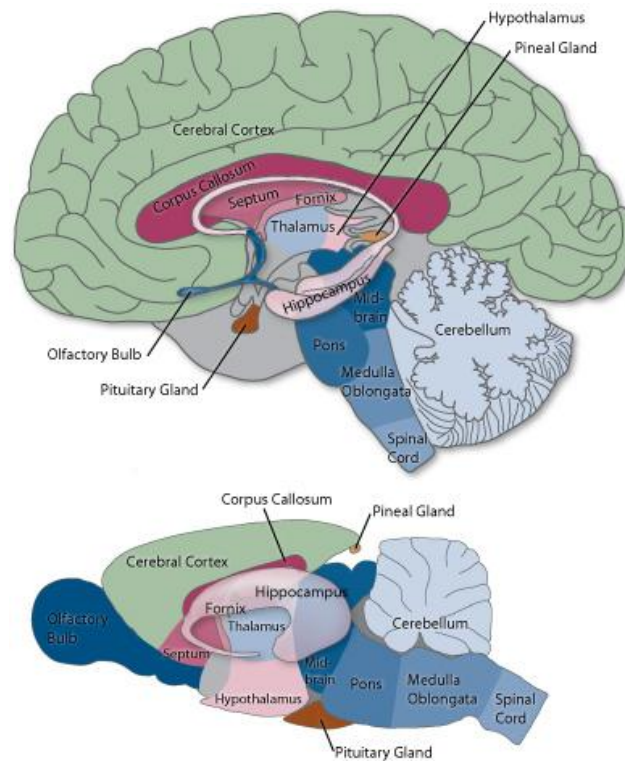


Figura 3.1. Comparativa de la estructura cerebral del cerebro humano frente al cerebro de rata [44].



Figura 3.2. Vista sagital de una MRI de cerebro de rata [45].

El tallo cerebral presenta intensidades bajas de forma que dificulta enormemente la extracción del cerebro cerca de la zona inferior. Además, como el cerebro de rata es mucho más pequeño, las *MRI* suelen tener menor resolución en relación con el tamaño del cerebro de *MRI* humana. Además, la zona que separa el cerebro de la rata y el cráneo es muy delgada y suele ser causa de fallo para muchos algoritmos de segmentación. Debido a todas estas características, los algoritmos desarrollados para humanos no son adecuados en imagen de pequeño animal.

La revisión realizada en este trabajo sobre métodos de segmentación desarrollados para pequeño animal fue clasificada en (1) segmentación de estructuras cerebrales y (2) extracción de cerebro total. A continuación se muestran algunos ejemplos relativos a esta clasificación.

1. Segmentación de estructuras cerebrales:

Ali et al. [46] presenta un algoritmo desarrollado para ratón que combina características de intensidad de *MRI*, información a priori modelada mediante campos aleatorios de Markov (*MRF*) y un clasificador Bayesiano. Mediante el uso de esta información estadística de segmentaciones manuales consigue segmentar 21 estructuras incluyendo sistema ventricular, cuerpo calloso, hipocampo y sustancia negra.

Por otro lado, Zhou et al. [47] propone un método de predicción de estructuras cerebrales previo a una segmentación automática de *MRI* cerebral de roedor. Utiliza un tipo de regresión no paramétrica basada en *kernel* para encontrar la posición aproximada de cada órgano en relación al centro de la imagen. Mediante la aplicación de un modelo de contornos activos tipo *snakes* y un modelo deformable denominado *metamorphs*, segmenta cambios topológicos en las estructuras cerebrales (por ejemplo, estructuras que faltan).

Otra propuesta es la de Bae et al. [48], que desarrolla un algoritmo automático para ratón basado en una extensión de los *MRF*. Dicha extensión se basa en la integración de una máquina de soporte vectorial (*SVM*) para mejorar la precisión de la clasificación basada en intensidad de *MRI*.

2. Extracción de cerebro total:

El algoritmo *BET* [42], desarrollado en un principio para la extracción de cerebro humano, se ha utilizado en cerebro de rata en varios estudios [49, 50] pero los resultados no fueron satisfactorios ya que algunos tejidos no cerebrales se seleccionaron como tejido cerebral debido al efecto de la pequeña superficie que separa el cráneo del cerebro sobre el método. En Jiehua et al. [45] se extiende el modelo deformable empleado en *BET* mediante la adición de información geométrica y estructura de los tejidos del cerebro de rata. Fracciona el cerebro de rata en zonas tratadas de forma independiente y emplea un factor exponencial en el modelo de deformación para mejorar la segmentación en los bordes del cerebro.

Otra alternativa propuesta por Uberti et al. [51] consiste en un método semiautomático basado en *CLS* (*Constraint Level Set*) para cerebro de ratón. Utiliza una deformación continua e iterativa sobre la imagen (función *Level Set*) que delimita el contorno del cerebro y añade información a priori relativa a la anatomía del sujeto (puntos límite). Esto mejora la convergencia del método si el cerebro sufre cambios bruscos en la secuencia de rodajas de la imagen presentes en ciertas patologías.

Una de las técnicas más novedosas es la presentada por Murugavel et al. [52], que implementa un método basado en *PCNN* (*Pulse Coupled Neural Network*) para cerebro de rata. La máscara cerebral óptima se selecciona mediante una red neuronal artificial previamente entrenada.

Chou et al. [53] extiende el método desarrollado por Murugavel [52] para ser aplicado a un modelo 3D con el fin de prescindir tanto de la decisión ofrecida por la ANN entrenada como de la intervención humana, convirtiendo el algoritmo en

totalmente automático. Ha sido desarrollado para funcionar tanto con cerebro de rata como de ratón. Para seleccionar la iteración que devuelve la máscara automática óptima se exploran las iteraciones correspondientes a un rango de valores de volumen apropiados al tamaño del cerebro del animal. Por ejemplo, el rango utilizado para cerebro de ratón es $100\text{-}550\text{mm}^3$. A continuación se busca la mayor disminución y crecimiento del gradiente sobre esa región, la cual normalmente corresponde al principio y final de la región resaltada en la Figura 3.3. La iteración óptima se elige mediante la media de estas dos iteraciones.

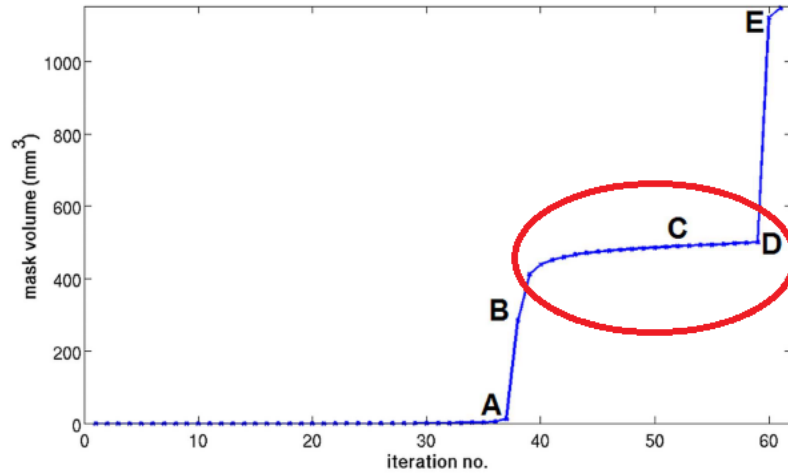


Figura 3.3. Representación del volumen de la máscara automática frente al número de iteración [59].

Como el objetivo de este trabajo era extraer la totalidad del cerebro de pequeño animal de forma automática, se ha procedido a estudiar el algoritmo *BEA-PCNN* propuesto por Murugavel [52] debido a que se pudo disponer del código compilado. Se solicitó a los autores la posibilidad de disponer del código completo para entrenar la *ANN* con otras imágenes, sin embargo, no fue cedido. Una descripción de su funcionamiento más detallada puede consultarse en la sección 4.3. La versión 3D de este algoritmo propuesta por Chou [53] no pudo evaluarse debido a fallos en la ejecución del software, que fueron comunicados a los autores.

CAPÍTULO 4

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Este capítulo detalla las características de las imágenes utilizadas y posteriormente describe el funcionamiento del método propuesto. De forma adicional, se explica el algoritmo *BEA-PCNN* seleccionado para su comparación.

4.1 Descripción del juego de datos

Se dispone de dos grupos de *MRI* bien diferenciados. El primero de ellos lo conforman las imágenes proporcionadas por los autores del algoritmo *BEA-PCNN* (en adelante, imágenes *BEA-PCNN*); el segundo incluye imágenes adquiridas en el equipo de resonancia magnética de la Unidad de Medicina y Cirugía Experimental (UMCE) del Hospital Gregorio Marañón (en adelante, imágenes UMCE).

- Imágenes *BEA-PCNN*

30 imágenes de ratas *Long-Evans* adquiridas con un imán Bruker Biospec de 4,7 T. Se empleó una secuencia anatómica ponderada en T2 con un FOV = 3 x 3 cm, tamaño de matriz 256 x 256 y 12 cortes de grosor de rodaja 1.2 mm. Estas imágenes fueron cedidas por los autores del algoritmo *BEA-PCNN* y están disponibles en [62].

- Imágenes UMCE

Se dispone de 12 imágenes de ratas *Sprague Dawley (SD)* y 18 imágenes de ratón *C57BL6*, adquiridas con un imán Bruker 7/210 USR de 7 T disponible en la UMCE del Hospital Gregorio Marañón. Se empleó una secuencia anatómica ponderada en T2 con un FOV = 3.5 x 3.5 cm, tamaño de matriz 256 x 256 y 34 cortes de grosor de rodaja 0.8 mm para las imágenes de rata y FOV=1.6 x 1.6 cm, tamaño de matriz 256 x 256 y 41 cortes de grosor de rodaja 0.4 mm para las imágenes de ratón. Se corrigió el artefacto de inhomogeneidad provocado por el uso de antena de superficie mediante el método *CO2* [22]. Este grupo de imágenes permitirá evaluar el comportamiento del método *BEA-PCNN* en estudios diferentes de los proporcionados por sus autores.

También se dispone de máscaras manuales (*gold-standard*) para ambos grupos de imágenes. Las máscaras manuales para las imágenes *BEA-PCNN* formaban parte del conjunto de datos ofrecido por los autores en [54]. Por otro lado, las máscaras de las imágenes adquiridas en UMCE fueron realizadas manualmente por técnicos especializados del laboratorio de imagen médica perteneciente a UMCE.

4.2 Segmentación mediante SBR

El proceso de segmentación se representa en la Figura 4.1 y cuenta con los siguientes pasos:

- Se elige, de forma aleatoria, una imagen de referencia del grupo de imágenes que se pretenden segmentar y se registran, mediante registro rígido, el 25% de las imágenes del estudio hacia ésta (de nuevo escogidas de forma aleatoria). Las imágenes resultantes se promedian para obtener una imagen ‘plantilla’ que denominaremos *template* auxiliar (Figura 4.1).

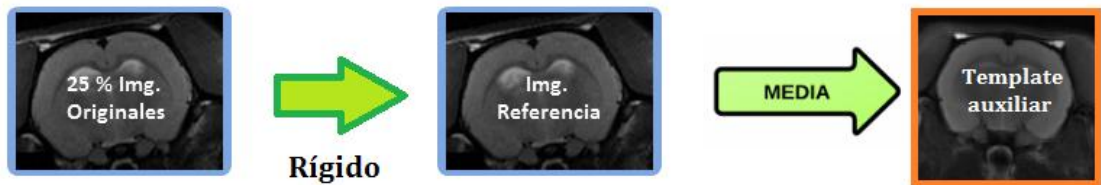


Figura 4.1. Diagrama de creación del template auxiliar.

- Se registran mediante registro rígido todo el grupo de imágenes a dicho *template* auxiliar, promediando los resultados y obteniendo el *template* final. La creación de este template se hace en dos pasos para que los resultados de la segmentación dependan de todo el conjunto de datos (Figura 4.2).



Figura 4.2. Diagrama de creación del template final.

- Dicho *template* se registra mediante registro rígido, seguido de un registro no rígido, hacia cada imagen para obtener las transformaciones entre el espacio de la imagen *template* y cada una de las imágenes del conjunto.
- Aplicamos dichos parámetros a una máscara obtenida mediante segmentación manual del *template* para obtener la segmentación final de cada imagen.

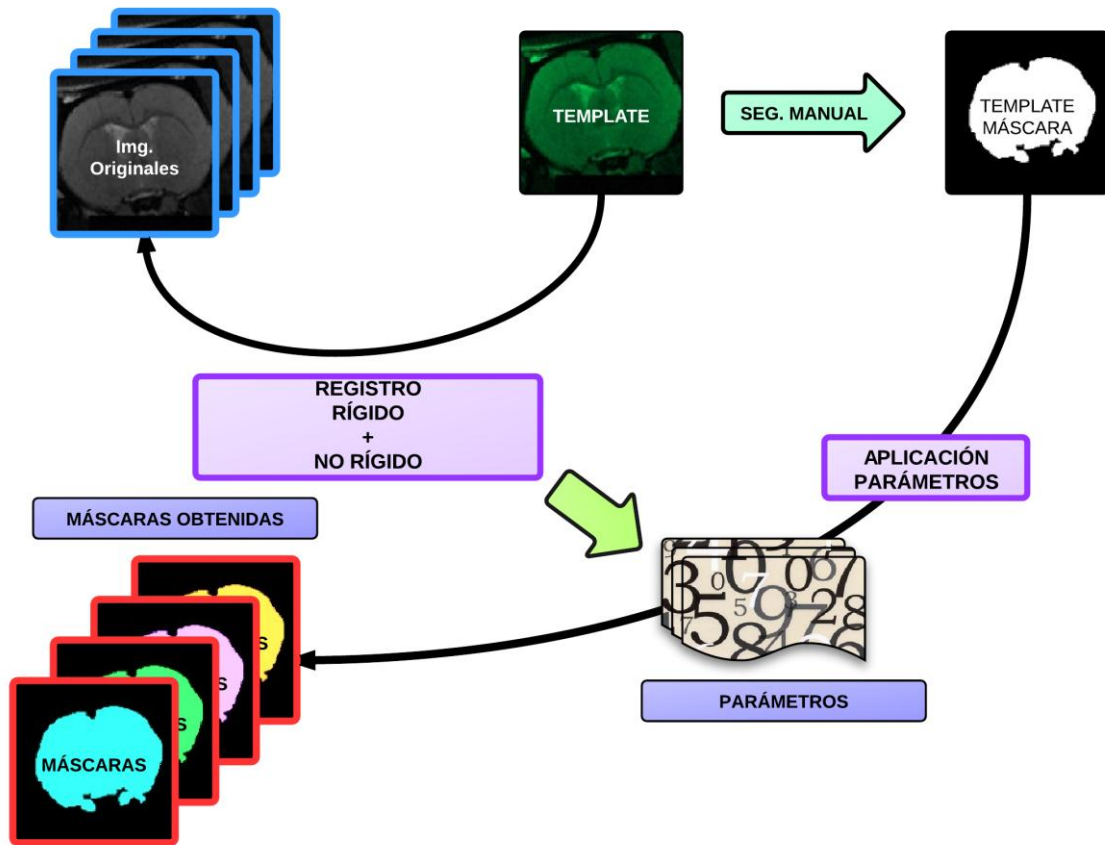


Figura 4.3. Diagrama del proceso de obtención de las máscaras mediante SBR.

Para la implementación del método de segmentación SBR se ha empleado el software *NiftyReg* desarrollado por Modat *et al.* [55], que implementa los algoritmos de registro rígido y no rígido propuestos por Ourselin [56, 57] y Rueckert [58], respectivamente.

Ourselin presenta en [56, 57] el algoritmo denominado *Aladin* basado en *block matching* [59] y *Trimmed Least Square (LTS)* [60]. Esta técnica proporciona un conjunto de puntos que establecen una correspondencia entre la imagen de referencia y la imagen objetivo. A partir de esos puntos, se realiza un registro rígido o afín. La optimización iterativa mediante *mínimos cuadrados* minimiza la distancia entre los puntos evitando verse afectada de forma excesiva por ‘*outliers*’.

El algoritmo de registro no rígido empleado se basa en el modelo de deformación *Free-Form Deformation (FDD)* presentado por Rueckert [58]. Para llevar a cabo el registro, se superpone una red de puntos de control sobre la imagen de referencia y, a partir de ellos, se genera el campo de deformación modelado mediante *b-splines* cúbicos. La función de coste se basa en *Normalized Mutual Information (NMI)* [61] y un término de regularización basado en *Bending Energy (BE)* [62]. *NMI* se fundamenta en la teoría de la información y, a partir del histograma conjunto de ambas imágenes se maximiza la información mutua de ambas. Por otro lado, *BE* penaliza la deformación

forzándola a ser suave para evitar deformaciones extremadamente grandes concentradas en pequeñas zonas de la imagen. La función de coste se minimiza mediante descenso por gradiente. Este algoritmo está implementado en *GPU* con el fin de reducir el coste computacional [55].

Existen términos de regularización adicionales a *BE* dentro del software NiftyReg que permiten penalizar la deformación aún más si es necesario. Dos de ellos son:

- Distancia euclídea al cuadrado del campo de desplazamiento D (*L2*): Se refiere a la distancia que va a recorrer un píxel. Si aumenta, se restringe el movimiento.
- Divergencia (*Linear elasticity, LE*): Es la capacidad que tiene un píxel de moverse con sus vecinos.

La creación del *template* para cada uno de los grupos se hace de forma separada, es decir, de cada set de imágenes se obtuvo un *template* medio. Las diferencias cerebrales entre los sujetos de cada grupo tras los registros rígidos son debidas a la propia variabilidad cerebral de la muestra. Teniendo en cuenta que cada animal dentro de su grupo pertenece a la misma raza y edad que el resto de sujetos, la variabilidad inter-sujeto no es amplia de forma que no es necesario realizar grandes deformaciones a las imágenes para ajustarlas entre sí. Por tanto, para el empleo del registro no lineal, los parámetros *BE* y *L2/LE* se ajustaron a 0.005 y 0.1/0.1 respectivamente, con el fin de regularizar las deformaciones de forma que no se las permitiera aumentar durante la optimización del registro.

4.2.1 Pre-procesado para imágenes BEA-PCNN

Para el caso concreto de segmentación de imágenes *BEA-PCNN* fue necesario realizar un pre-procesado de las imágenes antes de segmentarlas. Dicho proceso se especifica a continuación:

- Se corrigió previamente el artefacto de inhomogeneidad mediante *Nonparametric Nonuniformity Normalization (N3)* [21] para evitar que esta variación de intensidad influya en el proceso de registro. En este caso, no se utilizó *CO2* ya que no se disponía de las imágenes ponderadas en densidad protónica necesarias para la corrección.
- Se aumentó el número de cortes (de 12 a 36) mediante interpolación con *b-splines* cúbicos para que el algoritmo de registro no rígido ofreciera mejor resultado.

Posteriormente y con el fin de preservar los criterios de segmentación establecidos por los autores del método *BEA-PCNN* en sus imágenes, se realizó una modificación en el proceso descrito en la Figura 4.1. No se realizó una segmentación manual del *template*, sino que se calculó un *template máscara* a partir del promedio de las máscaras manuales ofrecidas por los autores. A estas máscaras (Figura 4.4.A) se les aplicaron previamente los parámetros resultantes de las transformaciones entre el espacio de cada imagen y el *template* (Figura 4.4.B). La Figura 4.4 muestra todo este proceso.

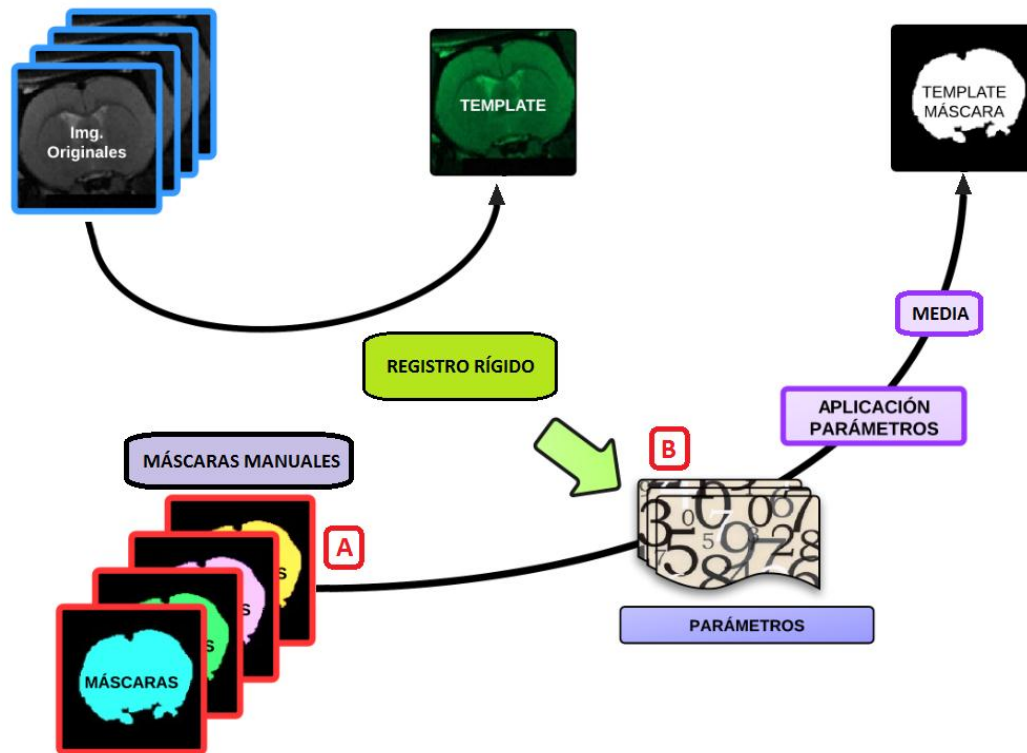


Figura 4.4. Diagrama de flujo del proceso de generación del *template máscara* para las imágenes *BEA-PCNN* mediante *SBR*.

4.3 Método BEA-PCNN

Este algoritmo se basa en el modelo estándar *PCNN* desarrollado por Eckhorn [63]. *PCNN* es un modelo de red neuronal basado en la réplica del comportamiento biológico de las neuronas (en términos de ráfagas de impulsos de sincronización) observado en el cerebro del gato [64]. La transcripción del modelo biológico al modelo algorítmico ha dado lugar a una amplia literatura sobre sistemas de procesamiento de datos. El esquema de una neurona *PCNN* típica se muestra en la Figura 4.3.

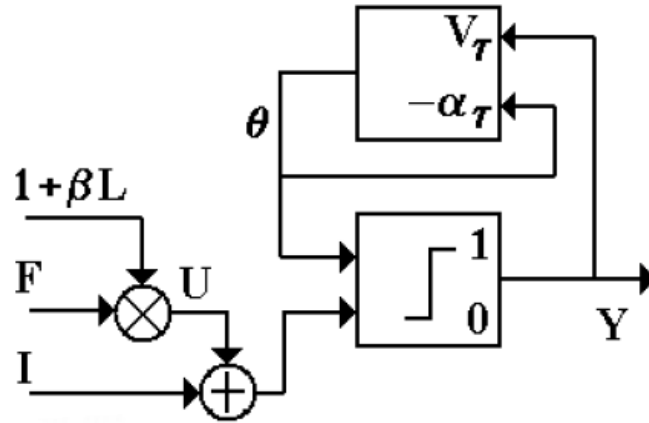


Figura 4.3. Neurona *PCNN* [65].

Estas neuronas se agrupan para formar una red que realiza iteraciones sobre un conjunto de datos de entrada, en este caso, la imagen a segmentar. Las ecuaciones para una iteración *PCNN* se muestran a continuación [65]:

$$F_{ij}[n] = e^{-\alpha_F} F_{ij}[n-1] + S_{ij} + V_F \sum_{kl} m_{ijkl} Y_{kl}[n-1] \quad (1)$$

$$L_{ij}[n] = e^{-\alpha_L} L_{ij}[n-1] + V_L \sum_{kl} w_{ijkl} Y_{kl}[n-1] \quad (2)$$

$$U_{ij}[n] = F_{ij}[n](1 + \beta L_{ij}[n]) + I \quad (3)$$

$$Y_{ij}[n] = \begin{cases} 1, & \text{si } U_{ij}[n] > \theta_{ij}[n] \\ 0, & \text{en otro caso} \end{cases} \quad (4)$$

$$\theta_{ij}[n] = e^{-\alpha_\theta} \theta_{ij}[n-1] + V_\theta Y_{ij}[n] \quad (5)$$

La estructura básica y simplificada del procesado *PCNN* de una imagen 2D se muestra en la Figura 2.

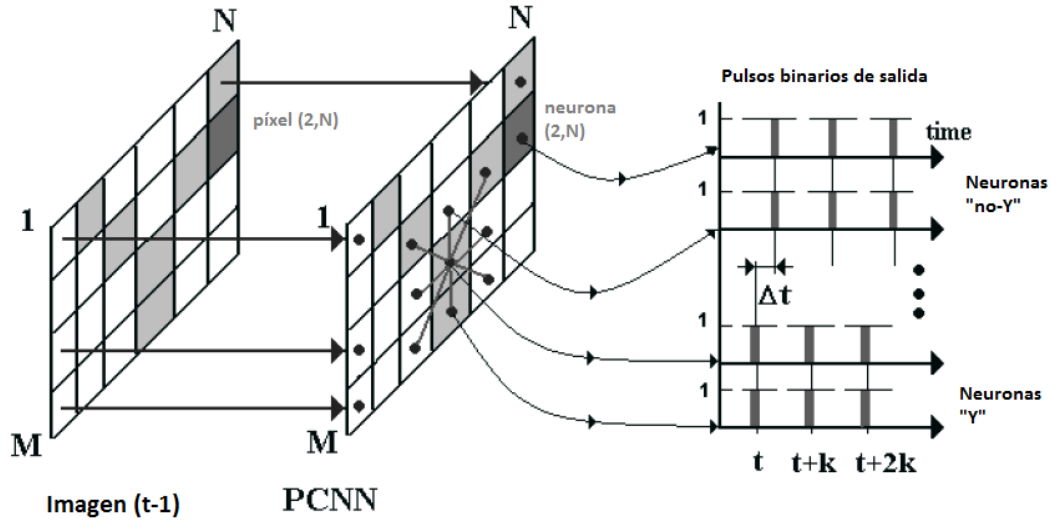


Figura 4.4. *Procesamiento de imagen mediante PCNN. A la derecha se puede observar el proceso de excitación-inhibición de una neurona [65].*

La imagen de entrada puede representarse mediante una matriz de $M \times N$ valores de intensidad normalizados. Esta matriz alimenta las $M \times N$ entradas de la red $PCNN$ para la primera iteración. Inicialmente todas las neuronas tienen un nivel de activación nulo, lo que resulta en la activación de todas las neuronas. El potencial de activación de cada neurona aumenta de forma significativa cuando la neurona se activa, para posteriormente decaer con el tiempo. Cuando el potencial cae por debajo del umbral de activación, dicha neurona se activa de nuevo, elevando nuevamente su potencial. Este proceso continúa generando pulsos binarios para cada neurona. A su vez, las neuronas incitan a sus vecinas a activarse mediante las interconexiones existentes entre ellas. Las que han sido activadas, influyen activando a sus vecinas, lo que genera una onda de activación que se expande a través de las regiones activas. De este modo, si un grupo de neuronas está próximo a activarse, una única neurona puede provocar la activación de dicho grupo [65].

Debido a la unión entre neuronas, la activación de las mismas conduce a la sincronización de grupos de neuronas que corresponden a subregiones de la imagen que tienen propiedades similares, produciendo una serie de imágenes binarias o máscaras, una para cada iteración del método. El criterio de parada se establece cuando $Y[n]$ (la imagen resultante) excede el 50% del tamaño total de la imagen de entrada (Figura 4.5).

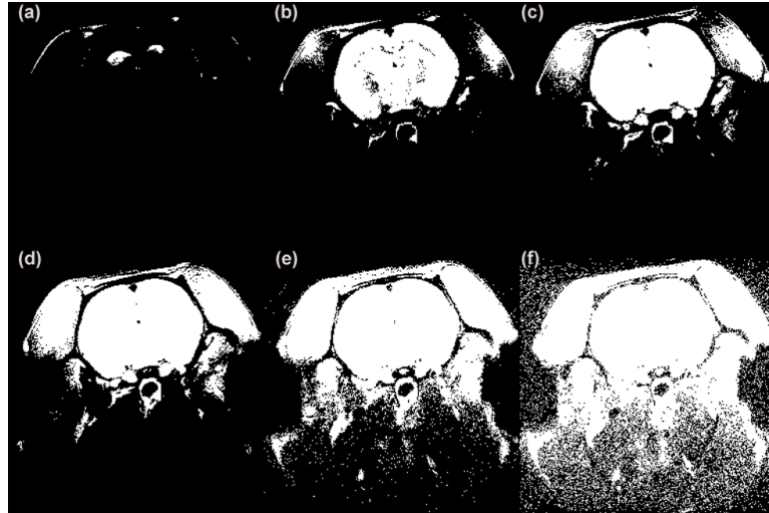


Figura 4.5. (a-f) Representación de un corte transaxial de una MRI de rata Long-Evans correspondiente a la iteración PCNN número 10, 20, 25, 30, 40 y 50, respectivamente [52].

Un operador morfológico se encarga de separar clústeres de zonas con características similares y, posteriormente, la red PCNN selecciona la región continua de mayor volumen (Figura 4.6).

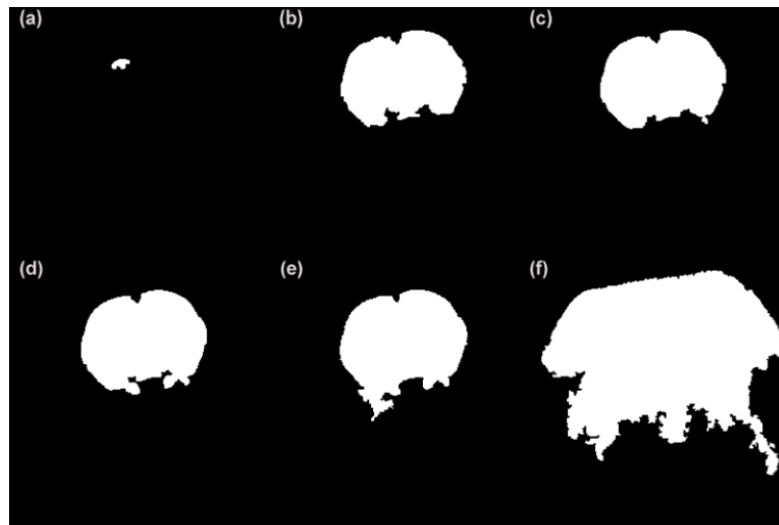


Figura 4.6. (a-f) Representación de la imagen resultante correspondiente a cada iteración PCNN de la imagen representada en la Figura 4.5 [52].

Por último, una red neuronal artificial (*Artificial Neural Network*, ANN) previamente entrenada con imágenes y sus máscaras manuales correspondientes, selecciona la máscara que considera óptima [52] de entre todas las ofrecidas en el primer paso. La máscara resultante se muestra en la Figura 4.7.

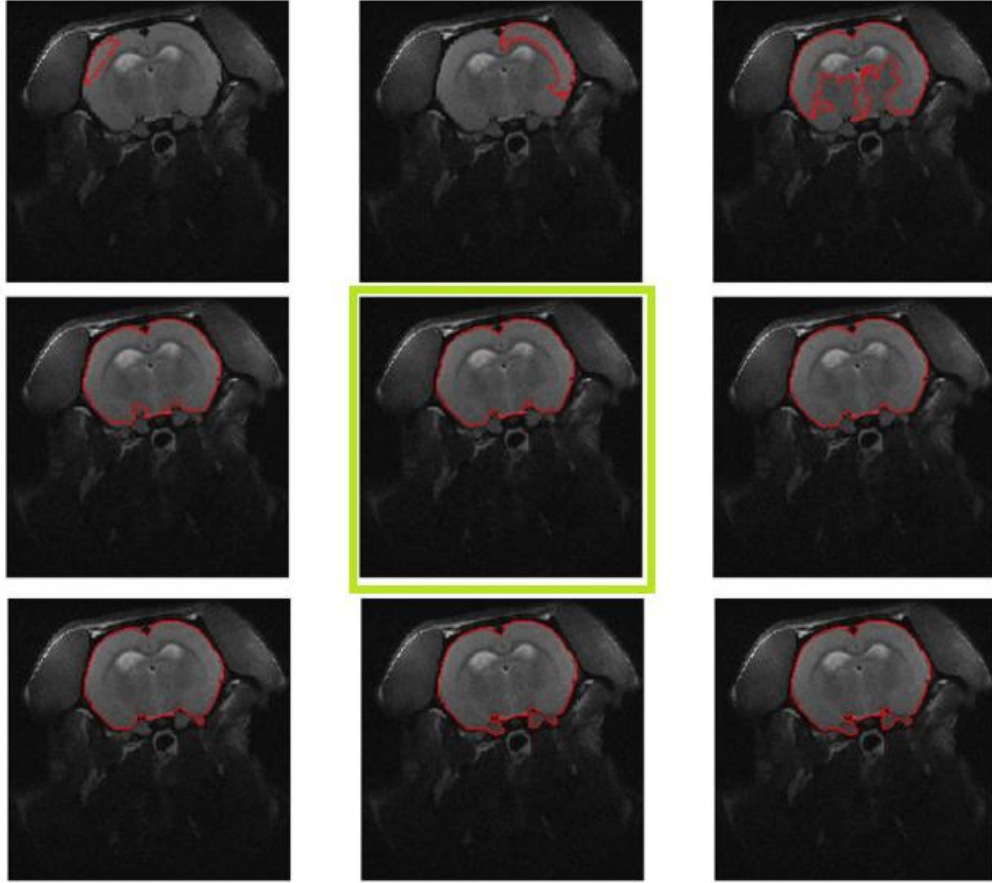


Figura 4.7. Ejemplo de la iteración PCNN seleccionada como óptima por la ANN [52].

4.4 Criterios de evaluación

La valoración de los dos métodos de segmentación se ha realizado mediante el índice de similitud *Jaccard* y el volumen de las máscaras, comparados con la segmentación manual considerada como referencia o *gold-standard*. El índice *Jaccard* queda definido por la siguiente ecuación, donde M_{BEA} representa a la máscara automática del método utilizado y M_{GOLD} a la máscara manual:

$$Jaccard = \frac{|M_{BEA} \cap M_{GOLD}|}{|M_{BEA} \cup M_{GOLD}|} \quad (6)$$

La significación de las diferencias entre el volumen de las máscaras manuales y automáticas se determinó mediante un test *ANOVA* de medidas repetidas.

CAPÍTULO 5

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El objetivo de este capítulo es presentar y discutir los resultados obtenidos para cada grupo de imágenes y cada uno de los métodos evaluados.

5.1 Imágenes BEA-PCNN

Las Figuras 5.1, 5.2 y 5.3 muestran una de las imágenes del grupo BEA-PCNN y las segmentaciones obtenidas para cada uno de los métodos evaluados. Las zonas cerebrales representadas son bulbo olfatorio (Figura 5.1), zona central (Figura 5.2) y tallo cerebral (Figura 5.3). En amarillo podemos ver los resultados de las diferentes máscaras, siendo la referencia la de la izquierda (correspondiente a la segmentación manual). Las flechas rojas indican zonas donde el método de segmentación ha cometido algún error.

En la Figura 5.1 puede observarse una subestimación en la zona cerebral en la segmentación proporcionada por BEA-PCNN. La zona correspondiente al bulbo olfatorio presenta una intensidad baja lo que dificulta la extracción automática del cerebro. La imagen de la derecha muestra una sobrestimación en el caso de SBR que puede ser debida a un mal ajuste del registro no rígido.

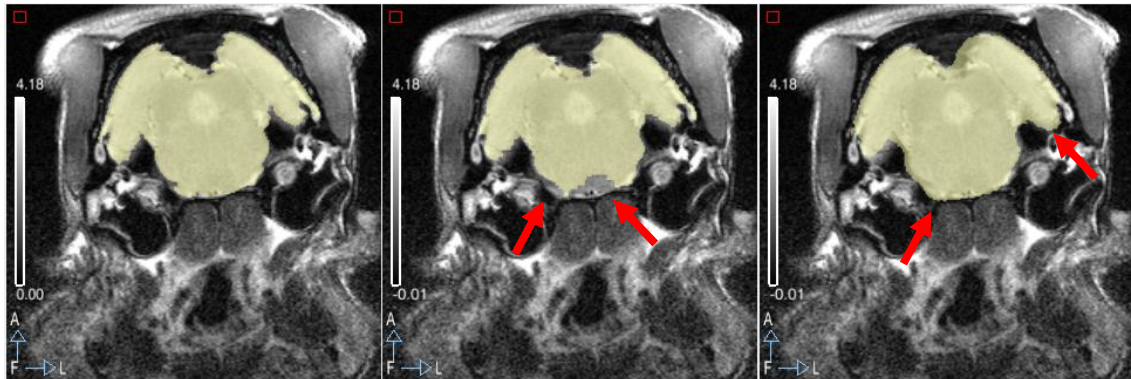


Figura 5.1. Corte transaxial correspondiente a la zona cerebral caudal de una MRI de rata Long-Evans fusionada con su máscara (de izquierda a derecha): manual, BEA-PCNN y SBR. Las flechas indican las zonas donde el algoritmo ha segmentado de forma errónea.

En la imagen central de la Figura 5.2 podemos observar una sobrestimación de la zona cerebral. Esto puede ser debido a un mal entrenamiento de la red neuronal. Puede afirmarse que las máscaras resultantes son parecidas aunque se adapta mejor la máscara obtenida mediante SBR.

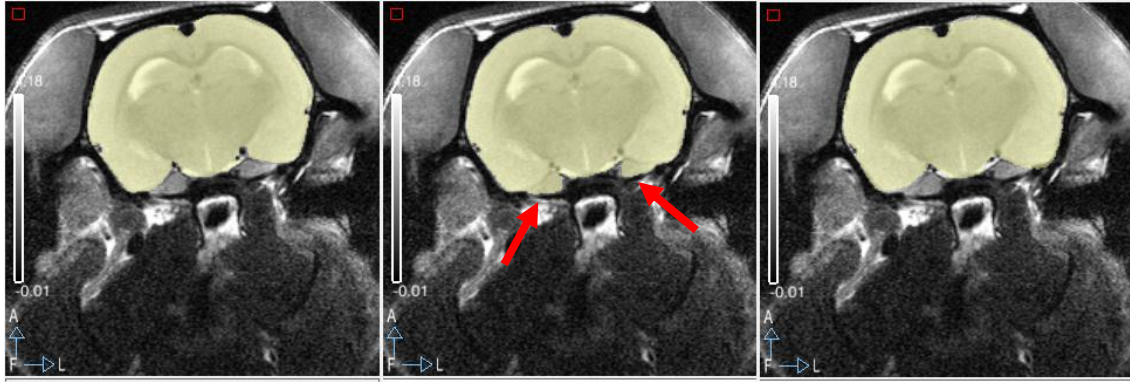


Figura 5.2. Corte transaxial correspondiente a la zona cerebral central de una MRI de rata Long-Evans fusionada con su máscara (de izquierda a derecha): manual, BEA-PCNN y SBR.

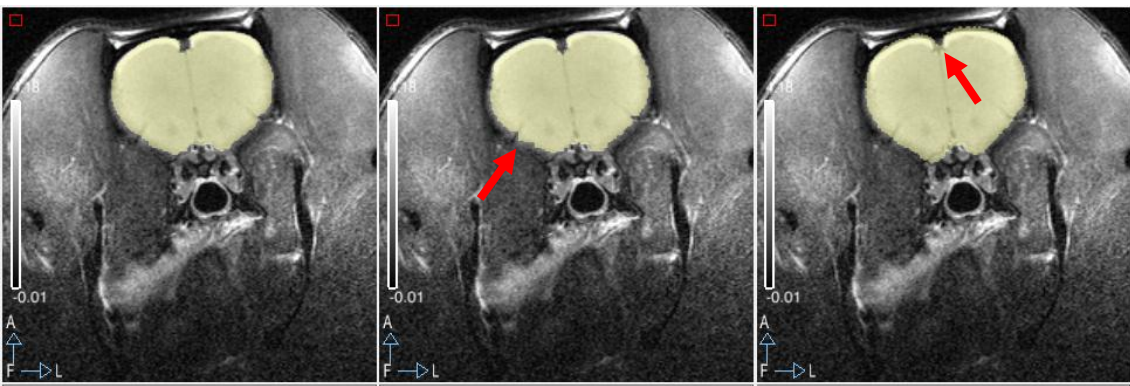


Figura 5.3. Corte transaxial correspondiente a la zona cerebral rostral de una MRI de rata Long-Evans fusionada con su máscara (de izquierda a derecha): manual, BEA-PCNN y SBR.

Con el fin de evaluar los métodos de forma objetiva, se presentan a continuación los resultados de los índices *Jaccard* para cada uno de los métodos de segmentación. En la Tabla 5.1 se muestra la distribución de índices a lo largo de todo el conjunto de imágenes. En verde, el mayor índice *Jaccard* para cada imagen y, en rojo, el menor. En negrita se marca el mayor y menor valor *Jaccard* que se obtiene con cada algoritmo. Podemos observar cómo todos los valores superan el 88%, lo que indica una buena segmentación general de todos los casos.

<i>Imagen</i>	<i>Jaccard PCNN</i>	<i>Jaccard SBR</i>
ratBrainVol01	0,9171	0,9419
ratBrainVol02	0,9201	0,9277
ratBrainVol03	0,9419	0,9344
ratBrainVol04	0,9409	0,9297
ratBrainVol05	0,9502	0,9379
ratBrainVol06	0,9226	0,9423
ratBrainVol07	0,9424	0,9406
ratBrainVol08	0,9340	0,9017
ratBrainVol09	0,9434	0,9297
ratBrainVol10	0,9439	0,9355
ratBrainVol11	0,9559	0,9448
ratBrainVol12	0,8997	0,9465
ratBrainVol13	0,9285	0,9533
ratBrainVol14	0,9454	0,9428
ratBrainVol15	0,9384	0,947
ratBrainVol16	0,9418	0,9463
ratBrainVol17	0,9428	0,9464
ratBrainVol18	0,9368	0,9428
ratBrainVol19	0,9427	0,9451
ratBrainVol20	0,9361	0,9502
ratBrainVol21	0,9385	0,9553
ratBrainVol22	0,9430	0,9479
ratBrainVol23	0,8892	0,9517
ratBrainVol24	0,9452	0,9435
ratBrainVol25	0,9365	0,949
ratBrainVol26	0,9326	0,9452

<i>Imagen</i>	<i>Jaccard PCNN</i>	<i>Jaccard SBR</i>
ratBrainVol27	0,9430	0,9455
ratBrainVol28	0,9423	0,9438
ratBrainVol29	0,9355	0,9483
ratBrainVol30	0,9228	0,9486

Tabla 5.1. Índices Jaccard de las imágenes proporcionadas por los autores del algoritmo BEA-PCNN para cada uno de los métodos de segmentación.

La tabla 5.2 muestra los valores medios y desviación estándar del índice *Jaccard* para cada algoritmo a lo largo de este grupo de imágenes. Se puede confirmar que el índice *Jaccard* de las máscaras obtenidas por los dos métodos frente a las máscaras manuales es equivalente y se verifica que ambos algoritmos responden adecuadamente ya que el índice de solapamiento se aproxima a 1.

	<i>Jaccard PCNN</i>	<i>Jaccard SBR</i>
Media	0,9351	0,9423
SD	0,0114	0,0102

Tabla 5.2. Estadísticas del índice Jaccard para ambos algoritmos sobre el grupo de imágenes BEA-PCNN.

En la Tabla 5.3 se muestran el tiempo medio de pre-procesado y ejecución de ambos algoritmos para cada imagen.

	<i>BEA-PCNN</i>	<i>SBR</i>
Pre-procesado (s)	--	26
Ejecución (s)	422	210

Tabla 5.3. Tiempos medios de los métodos medidos en un Quad Core, Intel Q6600, 2,4GHz, 8MB de memoria caché compartida, 4GB RAM.

Destaca la reducción significativa en tiempo de ejecución utilizando el método *SBR*. Respecto al *BEA-PCNN*, no se ha tenido en cuenta el tiempo de entrenamiento de la red *ANN* puesto que ese paso previo lo realizaron los autores del método. Para el método *SBR* tampoco se ha tenido en cuenta el tiempo empleado en segmentar el *template* debido a que es una medida dependiente de la experiencia del técnico que segmente.

A continuación, se muestra una comparativa entre los volúmenes de las máscaras para cada método (Tabla 5.4) con el objetivo de comprobar si se preserva el volumen del cerebro.

volumen	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
			Límite inferior	Límite superior
1	1470,195	8,287	1453,247	1487,143
2	1459,570	7,999	1443,210	1475,929
3	1467,706	3,469	1460,611	1474,801

Tabla 5.4. *Medias y errores de volúmenes en imágenes BEA-PCNN para segmentación: manual (1), BEA-PCNN (2) y SBR (3). Las diferencias entre métodos no son significativas para un umbral de significación $p \leq 0.05$.*

Las diferencias entre los volúmenes de las máscaras obtenidas mediante segmentación manual, *SBR* y *BEA-PCNN* no son significativas entre sí ($p \leq 0.05$). Esto confirma que las máscaras obtenidas por *SBR* y *BEA-PCNN* se parecen a la máscara obtenida manualmente.

5.2 Imágenes UMCE

Para este grupo de imágenes no se realiza una comparativa con la máscara obtenida ni se representa el tiempo de ejecución mediante el método *BEA-PCNN*. Esto se debe a que el resultado en todas las imágenes era completamente erróneo (véase Figura 5.4 y Figura 5.8). El mal funcionamiento puede ser consecuencia de la imposibilidad de entrenar la red neuronal. En la imagen derecha se puede comprobar que el método segmenta el ojo del animal debido a que su intensidad es mayor que la del cerebro y esto afecta significativamente al método *BEA-PCNN*.

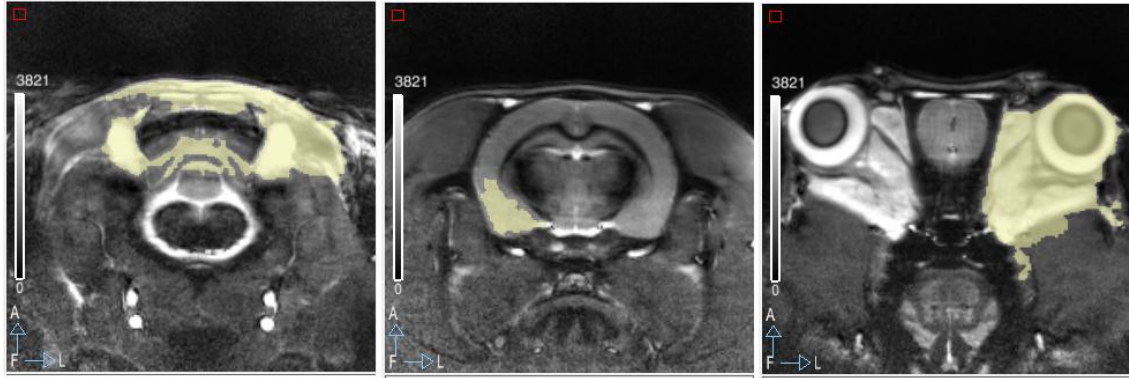


Figura 5.4. Cortes transaxiales de una imagen de rata *Sprague Dawley* fusionada con la máscara obtenida mediante *BEA-PCNN*. De izquierda a derecha: bulbo olfativo, zona central y tallo cerebral.

Las Figuras 5.5, 5.6 y 5.7 muestran una imagen de cerebro de rata perteneciente al grupo de imágenes *UMCE* junto a las segmentaciones manual y SBR (en color amarillo). Las zonas cerebrales representadas son bulbo olfatorio (Figura 5.5), zona central (Figura 5.6) y tallo cerebral (Figura 5.7). Las flechas rojas indican zonas donde el método de segmentación ha cometido algún error. Nuevamente se observa una sobrestimación del volumen cerebral.

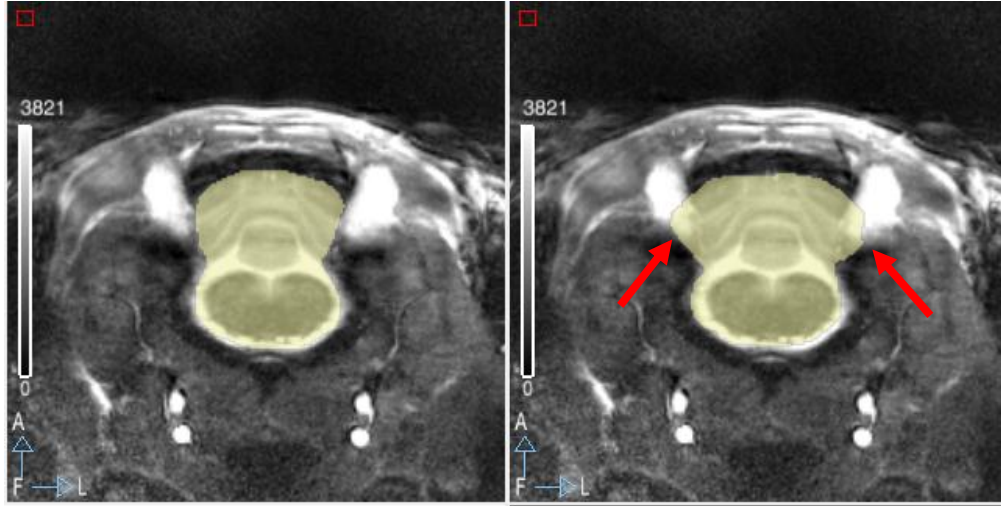


Figura 5.5. Corte transaxial correspondiente a la zona cerebral caudal de una imagen de rata Sprague Dawley fusionada con su máscara manual (izquierda) y SBR (derecha). Nuevamente, las flechas indican las zonas donde el algoritmo ha segmentado de forma errónea.

Las Figuras 5.6 y 5.7 representan un buen ajuste de las máscaras obtenidas mediante SBR, a pesar de que en la última se aprecian algunos fallos.

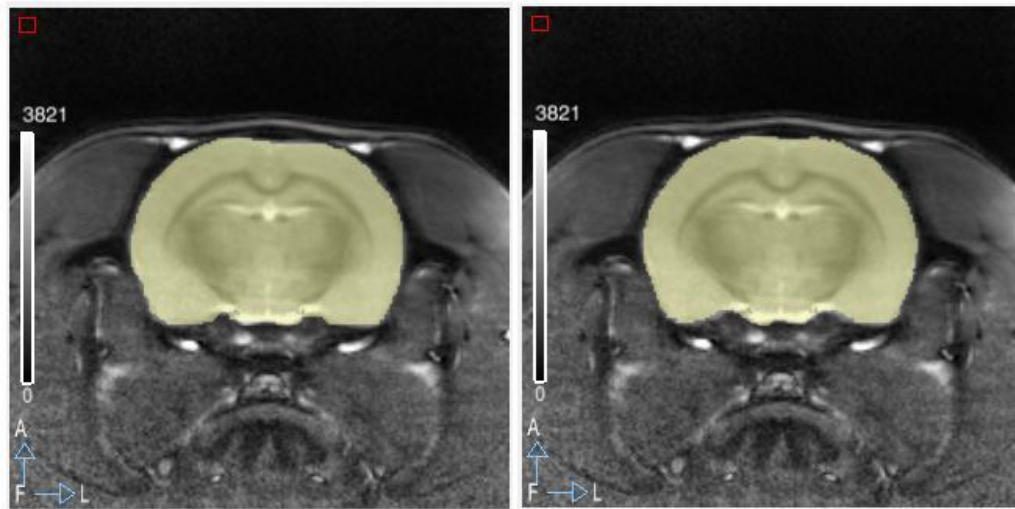


Figura 5.6. Corte transaxial correspondiente a la zona cerebral central de una imagen de rata Sprague Dawley fusionada con su máscara manual (izquierda) y SBR (derecha).

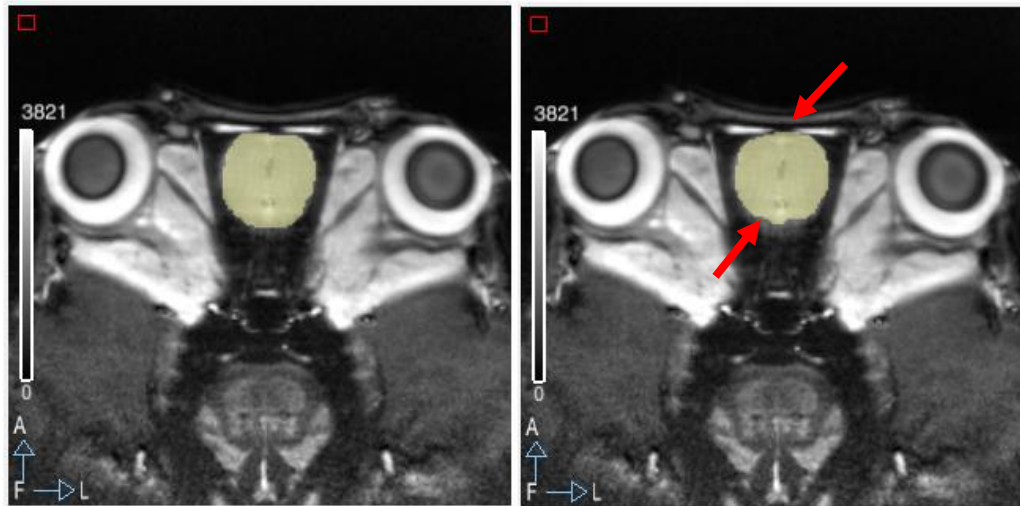


Figura 5.7. Corte transaxial correspondiente a la zona cerebral rostral de una imagen de rata Sprague Dawley fusionada con su máscara manual (izquierda) y SBR (derecha).

En la Tabla 5.5 se muestra la distribución de índices *Jaccard* de todas las imágenes *UMCE* de rata. Se representa en negrita el mayor y menor índice de solapamiento obtenido. Podemos observar cómo todos los valores superan el 89%, lo que indica una buena segmentación general.

<i>Imagen</i>	<i>Jaccard SBR</i>
ratBrainR2	0,9214
ratBrainR9	0,9064
ratBrainR11	0,9325
ratBrainR12	0,8915
ratBrainR16	0,9218
ratBrainR25	0,9113
ratBrainR27	0,9211
ratBrainR29	0,9013
ratBrainR30	0,9307
ratBrainR35	0,9165
ratBrainR38	0,93
ratBrainR42	0,9139

Tabla 5.5. Índices *Jaccard* de las imágenes *UMCE* de rata *SD* para el algoritmo *SBR*.

La Tabla 5.6 muestra los valores medios y desviación estándar del índice Jaccard para el método *SBR*. El índice de solapamiento se aproxima a 1 y esto verifica que en media la segmentación es válida.

Jaccard SBR	
Media	0,9165
SD	0,0124

Tabla 5.6. Estadísticas del índice Jaccard de imágenes *UMCE* de rata *SD* para el algoritmo *SBR*.

En la Tabla 5.7 se presentan los promedios de los volúmenes para este caso. El tiempo medio de ejecución del método *SBR* es de 155 segundos para cada imagen. El tiempo aproximado que emplea un técnico experto en segmentar una imagen son 1200 segundos (20 minutos). El algoritmo *SBR* reduce considerablemente el tiempo de ejecución.

volumen	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
			Límite inferior	Límite superior
1	1886,790	13,100	1857,958	1915,622
2	1946,031	8,416	1927,508	1964,555

Tabla 5.7. Medias y errores de volúmenes de rata *SD* para segmentación manual (1) y *SBR* (2).

Al realizar la comparativa entre volúmenes de máscaras segmentadas manualmente y mediante *SBR*, se constatan diferencias significativas ($p < 0.05$). Una explicación de este hecho sería el emborronamiento de los bordes presente en el *template*, que repercute en el ajuste y minimización de la función de coste del registro no lineal. Si este se produce en dichas zonas, el algoritmo de registro provoca un gran desplazamiento en dicha zona, lo que altera el volumen de forma significativa como constatan las tablas.

Para el grupo de imágenes *UMCE* correspondientes a ratón se obtienen resultados similares a los de rata (véase Figura 5.8). Las zonas segmentadas corresponden a las de mayor intensidad presentes en la imagen.



Figura 5.8. Cortes transaxiales de una imagen de ratón C57BL6 fusionada con la máscara obtenida mediante BEA-PCNN. De izquierda a derecha: bulbo olfativo, zona central y tallo cerebral.

Las Figuras 5.9, 5.10 y 5.11 muestran una imagen de cerebro de ratón perteneciente al grupo de imágenes *UMCE* junto a las segmentaciones manual y SBR (en color amarillo). Las zonas cerebrales representadas son bulbo olfatorio (Figura 5.9), zona central (Figura 5.10) y tallo cerebral (Figura 5.11). De nuevo, las flechas rojas indican zonas donde el método de segmentación ha cometido errores. Se observa una subestimación cerebral del método SBR en todas las figuras consecuencia de un mal ajuste del registro no lineal.



Figura 5.9. Corte transaxial correspondiente a la zona cerebral caudal de una imagen de ratón C57BL6 fusionada con su máscara manual (izquierda) y SBR (derecha).

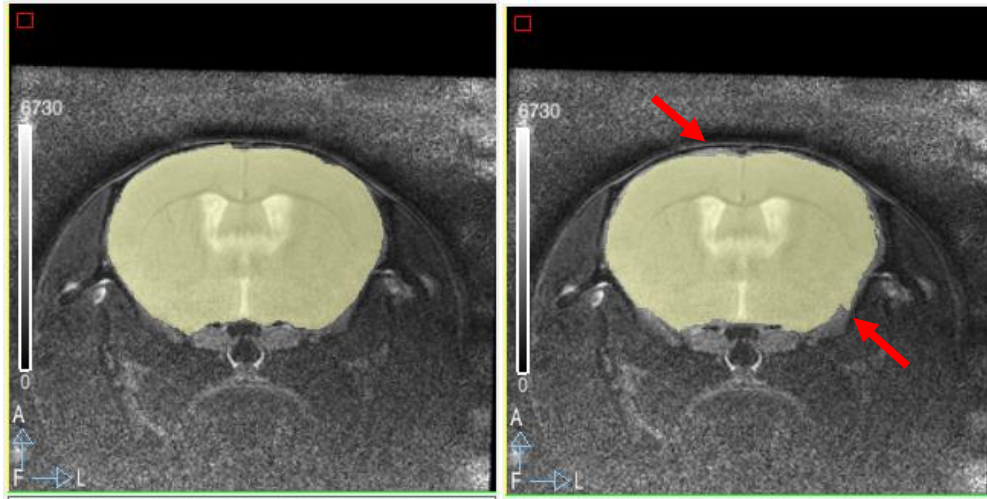


Figura 5.10. Corte transaxial correspondiente a la zona cerebral central de una imagen de ratón C57BL6 fusionada con su máscara manual (izquierda) y SBR (derecha). Las flechas indican las zonas donde el algoritmo ha segmentado de forma errónea.

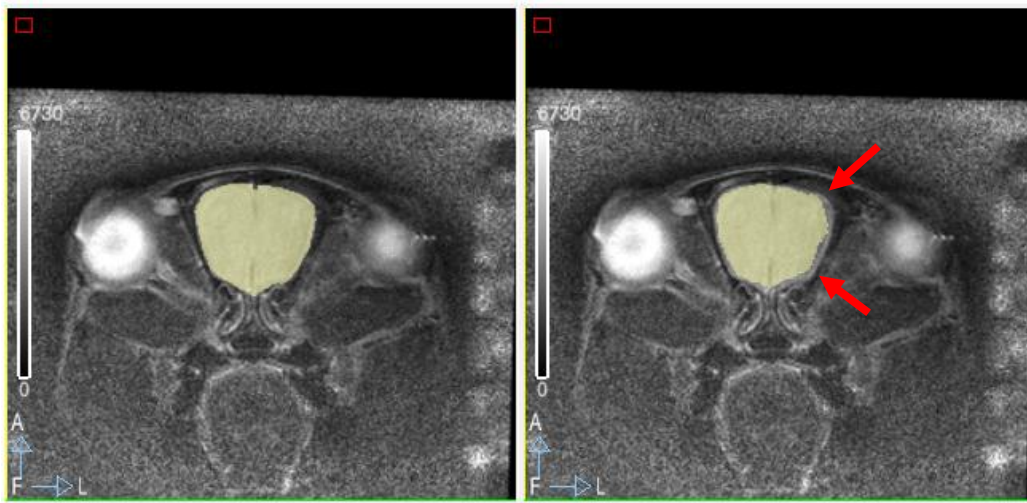


Figura 5.11. Corte transaxial correspondiente a la zona cerebral rostral de una imagen de ratón C57BL6 fusionada con su máscara manual (izquierda) y SBR (derecha).

En la Tabla 5.8 se muestra la distribución de índices *Jaccard* de todas las imágenes UMCE de ratón. Se representa en negrita el mayor y menor índice de solapamiento obtenido. Podemos observar cómo todos los valores superan el 92%, lo que indica una buena segmentación.

<i>Imagen</i>	<i>Jaccard SBR</i>
mouseBrain68.1	0,9376
mouseBrain68.2	0,9263
mouseBrain68.3	0,9224
mouseBrain73.1	0,9331
mouseBrain73.2	0,9309
mouseBrain73.3	0,943
mouseBrain90.2	0,9483
mouseBrain94.2	0,9354
mouseBrain95.3	0,9412
mouseBrain107.1	0,946
mouseBrain107.3	0,9384
mouseBrain107.6	0,9355
mouseBrainWT2	0,9409
mouseBrainWT3	0,9257
mouseBrainWT4	0,9264
mouseBrainWT6	0,937
mouseBrainWT7	0,9211

Tabla 5.8. *Índices Jaccard de las imágenes UMCE de ratón C57BL6 para el algoritmo SBR.*

La Tabla 5.9 muestra los valores medios y desviación estándar del índice *Jaccard* para el método *SBR*. Una desviación estándar del 1% indica que el método es robusto independientemente de la imagen que esté segmentando.

<i>Jaccard SBR</i>	
Media	0,935
<i>SD</i>	0,0106

Tabla 5.9. *Estadísticas del índice Jaccard de imágenes UMCE de ratón C57BL6 para el algoritmo SBR.*

En la Tabla 5.10 se presentan los promedios de los volúmenes para este caso. El tiempo medio de ejecución del método *SBR* es de 184 segundos para cada imagen.

volumen	Media	Error tip.	Intervalo de confianza al 95%.	
			Límite inferior	Límite superior
1	403,557	2,575	398,124	408,990
2	383,521	2,881	377,442	389,600

Tabla 5.10. Medias y errores de volúmenes de ratón C57BL6 para segmentación manual (1) y *SBR* (2).

Al realizar la comparativa entre volúmenes de máscaras segmentadas manualmente y mediante *SBR*, se constatan diferencias significativas ($p < 0.05$). Una posible explicación es la ofrecida en las imágenes *UMCE* de rata: el emborronamiento presente en los bordes del *template*.

CAPÍTULO 6

6. CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO

Se ha presentado un método de segmentación automática para imágenes preclínicas de rata y ratón. Los resultados demuestran que la máscara de tejido cerebral obtenida es válida, comparada tanto con segmentaciones manuales como con un método BEA-PCNN previamente propuesto en la literatura, superando algunas limitaciones prácticas de este último. Las conclusiones particulares del estudio son las siguientes:

- El algoritmo *BEA-PCNN* es dependiente de las imágenes objetivo: no funciona con las imágenes UMCE aunque sean de rata. Tampoco funciona correctamente en las zonas correspondientes al bulbo olfatorio y tallo cerebral en muchas de las imágenes proporcionadas por los autores, siendo necesaria la intervención manual para configurar el número de iteraciones necesarias para dichas zonas.
- El algoritmo *SBR* se comporta de manera estable y robusta con independencia de las imágenes utilizadas.
- El método *SBR* sobrestima el volumen en las imágenes UMCE de rata y subestima en las de ratón. Esto puede ser debido a los bordes borrosos del *template*.
- El método *SBR* es más rápido, a pesar de la necesidad de segmentar el *template*. Como ventaja, los criterios de segmentación del mismo se transmiten a las máscaras automáticas obtenidas.

Como mejoras futuras del método propuesto se pretende probar diferentes tipos de registro para intentar conservar los bordes nítidos en la imagen *template*. Esto podría evitar los problemas relacionados con la alteración de los volúmenes de las máscaras obtenidas mediante *SBR*.

CAPÍTULO 7

7. GLOSARIO

ANN: *Artificial Neural Network*, Red Neuronal Artificial.

BEA: *Brain Extraction Algorithm*, Algoritmo de Extracción Cerebral.

CT: *Computed Tomography*, Tomografía Computarizada.

fMRI: *Functional Magnetic Resonance Imaging*, Imagen por Resonancia Magnética Funcional.

MR: *Magnetic Resonance*, Resonancia Magnética.

MRF: *Markov Random Fields*, Campos Aleatorios de Markov.

MRI: *Magnetic Resonance Imaging*, Imagen por Resonancia Magnética.

NM: *Nuclear Medicine*, Medicina Nuclear.

NRM: *Nuclear Magnetic Resonance*, Resonancia Magnética Nuclear.

PCNN: *Pulse Coupled Neural Network*, Red Neuronal de Parejas de Pulsos.

PET: *Positron Emission Tomography*, Tomografía por Emisión de Positrones.

RF: *Radio Frequency*, Radiofrecuencia.

SPECT: *Single Photon Emission Computed Tomography*, Tomografía Computarizada por Emisión de Fotón Único.

US: *Ultrasound*, Ultrasonido.

VBM: *Voxel based morphometry*, Morfometría basada en vóxel.

CAPÍTULO 8

8. REFERENCIAS

1. Balaban, R.S. and V.A. Hampshire, *Challenges in small animal noninvasive imaging*. ILAR J, 2001. 42(3): p. 248-62.
2. Hildebrandt, I.J., H. Su, and W.A. Weber, *Anesthesia and other considerations for in vivo imaging of small animals*. ILAR J, 2008. 49(1): p. 17-26.
3. Hernández, S., *El modelo animal en las investigaciones biomédicas*. Biomedicina, 2006. 2(3): p. 252-256.
4. Desco, M., *Técnicas de generación de imágenes médicas*, in *Ingeniería Biomédica. Imágenes Médicas*. 2006, Ediciones de la Universidad de Castilla-La Mancha: Cuenca. p. 27-50.
5. Manjón, J.V., *Segmentación Robusta de Imágenes de RM cerebral*, in *Departamento de Física Aplicada*, M. Robles Viejo and L. Martí Bonmatí, Editors. 2006, Universidad Politécnica de Valencia: Valencia.
6. Benito Cristóbal, C., *Aplicaciones de las herramientas informáticas de segmentación en neurorradiología*, in *Facultad de Medicina*, M. Desco and S. Reig, Editors. 2004, Universidad Complutense: Madrid.
7. Gispert López, J.D., *Segmentación estadística de imágenes de resonancia magnética*, in *ETSI de Telecomunicación*, M. Desco, Editor. 2003, Universidad Politécnica: Madrid.
8. Pruessmann, K.P., et al., *SENSE: sensitivity encoding for fast MRI*. Magn Reson Med, 1999. 42(5): p. 952-62.
9. Rogowska, J., *Overview and fundamentals of medical image segmentation*, in *Handbook of medical imaging*, N.B. Isaac, Editor. 2000, Academic Press, Inc. p. 69-85.
10. Worth, A.J., et al., *Neuroanatomical Segmentation in MRI: Technological Objectives*. International Journal of Pattern Recognition and Artificial Intelligence - IJPRAI 1997. 11(8): p. 1161-1187.
11. Niessen, W.J., et al., *Multiscale Segmentation of Three-Dimensional MR Brain Images*. Int. J. Comput. Vision, 1999. 31(2-3): p. 185-202.

12. Santago, P. and H.D. Gage, *Quantification of MR brain images by mixture density and partial volume modeling*. Medical Imaging, IEEE Transactions on, 1993. 12(3): p. 566-574.
13. Santago, P. and H.D. Gage, *Statistical models of partial volume effect*. Image Processing, IEEE Transactions on, 1995. 4(11): p. 1531-1540.
14. Laidlaw, D.H., K.W. Fleischer, and A.H. Barr, *Partial-volume Bayesian classification of material mixtures in MR volume data using voxel histograms*. Medical Imaging, IEEE Transactions on, 1998. 17(1): p. 74-86.
15. Ruan, S., et al., *Brain tissue classification of magnetic resonance images using partial volume modeling*. Medical Imaging, IEEE Transactions on, 2000. 19(12): p. 1179-1187.
16. Choi, H.S., D.R. Haynor, and Y. Kim, *Partial volume tissue classification of multichannel magnetic resonance images-a mixel model*. Medical Imaging, IEEE Transactions on, 1991. 10(3): p. 395-407.
17. Cusack, R., M. Brett, and K. Osswald, *An Evaluation of the Use of Magnetic Field Maps to Undistort Echo-Planar Images*. NeuroImage, 2003. 18(1): p. 127-142.
18. Brinkmann, B.H., A. Manduca, and R.A. Robb, *Optimized homomorphic unsharp masking for MR grayscale inhomogeneity correction*. Medical Imaging, IEEE Transactions on, 1998. 17(2): p. 161-171.
19. Dawant, B.M., A.P. Zijdenbos, and R.A. Margolin, *Correction of intensity variations in MR images for computer-aided tissue classification*. Medical Imaging, IEEE Transactions on, 1993. 12(4): p. 770-781.
20. Rajapakse, J.C., J.N. Giedd, and J.L. Rapoport, *Statistical approach to segmentation of single-channel cerebral MR images*. Medical Imaging, IEEE Transactions on, 1997. 16(2): p. 176-186.
21. Vovk, U., F. Pernus, and B. Likar, *A Review of Methods for Correction of Intensity Inhomogeneity in MRI*. Medical Imaging, IEEE Transactions on, 2007. 26(3): p. 405-421.
22. Marinetto, E., et al. *Corrección de artefacto de inhomogeneidad en imágenes de resonancia magnética de pequeños animales*. in XXVIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB). 2010. Madrid.
23. Arnold, J.B., et al., *Qualitative and Quantitative Evaluation of Six Algorithms for Correcting Intensity Nonuniformity Effects*. NeuroImage, 2001. 13(5): p. 931-943.
24. Velthuizen, R.P., et al., *Review and evaluation of MRI nonuniformity corrections for brain tumor response measurements*. Vol. 25. 1998. 1655-66.

25. Zhang, J., *The mean field theory in EM procedures for blind Markov random field image restoration*. Image Processing, IEEE Transactions on, 1993. 2(1): p. 27-40.
26. Held, K., et al., *Markov random field segmentation of brain MR images*. Medical Imaging, IEEE Transactions on, 1997. 16(6): p. 878-886.
27. Clarke, L.P., et al., *MRI segmentation: Methods and applications*. Magnetic Resonance Imaging, 1995. 13(3): p. 343-368.
28. Heinonen, T., et al., *Applicability of semi-automatic segmentation for volumetric analysis of brain lesions*. Vol. 22. 173-8.
29. Otsu, N., *A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms*. Systems, Man and Cybernetics, IEEE Transactions on, 1979. 9(1): p. 62-66.
30. Desco, M., et al. *Multimodality Image Quantification using Talairach Grid*. in *Medical Imaging 2001 Conference (SPIE)*. 2001. San Diego, California.
31. Pascau, J., et al., *Registro de imágenes en medicina nuclear*. Rev R Acad Cien Exact Fis Nat, 2002. 96(1-2): p. 29-43.
32. Hutton, B.F., et al., *Image registration: an essential tool for nuclear medicine*. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 2002. 29(4): p. 559-577.
33. Bixby, R.E., *Implementing the Simplex Method: The Initial Basis*. ORSA Journal on Computing, 1992. 4(3): p. 267-284.
34. Powell, J.D., *Restart Procedures for the Conjugate Gradient Method*. 1975: UKAEA, Harwell, Atomic Energy Research Establishment.
35. Boesen, K., et al., *Quantitative comparison of four brain extraction algorithms*. NeuroImage, 2004. 22(3): p. 1255-1261.
36. Chiverton, J., et al., *Statistical morphological skull stripping of adult and infant MRI data*. Computers in Biology and Medicine, 2007. 37(3): p. 342-357.
37. Fennema-Notestine, C., et al., *Quantitative evaluation of automated skull-stripping methods applied to contemporary and legacy images: Effects of diagnosis, bias correction, and slice location*. 2006, WILEY-LISS.
38. Hartley, S.W., et al., *Analysis and validation of automated skull stripping tools: A validation study based on 296 MR images from the Honolulu Asia aging study*. NeuroImage, 2006. 30(4): p. 1179-1186.
39. Lee, J.-M., et al., *Evaluation of automated and semi-automated skull-stripping algorithms using similarity index and segmentation error*. Computers in Biology and Medicine, 2003. 33(6): p. 495-507.

40. Rex, D.E., et al., *A meta-algorithm for brain extraction in MRI*. NeuroImage, 2004. 23(2): p. 625-637.
41. Ségonne, F., et al., *A hybrid approach to the skull stripping problem in MRI*. NeuroImage, 2004. 22(3): p. 1060-1075.
42. Smith, S.M., *Fast robust automated brain extraction*. Hum Brain Mapp, 2002. 17(3): p. 143-55.
43. Zhuang, A.H., D.J. Valentino, and A.W. Toga, *Skull-stripping magnetic resonance brain images using a model-based level set*. NeuroImage, 2006. 32(1): p. 79-92.
44. *Mice are Good Model Organisms for Addiction Research.*, Genetic Science Learning Center,
<http://learn.genetics.utah.edu/content/addiction/genetics/neurobiol.html>.
45. Jiehua, L., et al., *A deformable surface model based automatic rat brain extraction method*. Proc IEEE Int Symp Biomed Imaging, 2011: p. 1741-1745.
46. Ali, A.A., et al., *Automated segmentation of neuroanatomical structures in multispectral MR microscopy of the mouse brain*. NeuroImage, 2005. 27(2): p. 425-435.
47. Zhou, J., et al., *Segmentation of rodent brains from MRI based on a novel statistical structure prediction method*, in *Proceedings of the Sixth IEEE international conference on Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro*. 2009, IEEE Press: Boston, Massachusetts, USA. p. 498-501.
48. Bae, M.H., et al., *Automated segmentation of mouse brain images using extended MRF*. NeuroImage, 2009. 46(3): p. 717-725.
49. Roberts, T.J., et al., *Preservation of striatal tissue and behavioral function after neural stem cell transplantation in a rat model of Huntington's disease*. Neuroscience, 2006. 139(4): p. 1187-1199.
50. Schwarz, A.J., et al., *In vivo mapping of functional connectivity in neurotransmitter systems using pharmacological MRI*. NeuroImage, 2007. 34(4): p. 1627-1636.
51. Uberti, M.G., M.D. Boska, and Y. Liu, *A semi-automatic image segmentation method for extraction of brain volume from in vivo mouse head magnetic resonance imaging using Constraint Level Sets*. Journal of Neuroscience Methods, 2009. 179(2): p. 338-344.
52. Murugavel, M. and J.M. Sullivan, Jr., *Automatic cropping of MRI rat brain volumes using pulse coupled neural networks*. Neuroimage, 2009. 45(3): p. 845-54.

53. Chou, N., et al., *Robust automatic rodent brain extraction using 3-D pulse-coupled neural networks (PCNN)*. IEEE Trans Image Process, 2011. 20(9): p. 2554-64.
54. *NeuroImage/Elsevier web products server*,
<http://www.sciencedirect.com/science/MiamiMultiMediaURL/1-s2.0-S1053811908012809/1-s2.0-S1053811908012809-mmc1.zip/272508/html/S1053811908012809/2dbf6baa933ef1034efb238ebb93ed0b/mmc1.zip>.
55. Modat, M., et al., *Fast free-form deformation using graphics processing units*. Comput. Methods Prog. Biomed., 2010. 98(3): p. 278-284.
56. Ourselin, S., et al., *Reconstructing a 3D structure from serial histological sections*. Image and Vision Computing, 2001. 19(1-2): p. 25-31.
57. Ourselin, S., R. Stefanescu, and X. Pennec, *Robust Registration of Multi-modal Images: Towards Real-Time Clinical Applications*, in *Proceedings of the 5th International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention-Part II*. 2002, Springer-Verlag. p. 140-147.
58. Rueckert, D., et al., *Nonrigid registration using free-form deformations: application to breast MR images*. Medical Imaging, IEEE Transactions on, 1999. 18(8): p. 712-721.
59. Ourselin, S., et al., *Block Matching: A General Framework to Improve Robustness of Rigid Registration of Medical Images* *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI 2000*, S. Delp, A. DiGoia, and B. Jaramaz, Editors. 2000, Springer Berlin / Heidelberg. p. CH373-CH373.
60. Rousseeuw, P.J. and A.M. Leroy, *Robust regression and outlier detection*. 1987: John Wiley & Sons, Inc. 329.
61. Studholme, C., D.L.G. Hill, and D.J. Hawkes, *An overlap invariant entropy measure of 3D medical image alignment*. Pattern Recognition, 1999. 32(1): p. 71-86.
62. Wahba, G., *Spline Models for Observational Data*. CBMS-NSF Regional Conference Series in Applied Mathematics. 1990: Society for Industrial and Applied Mathematics. 177.
63. Johnson, J.L. and M.L. Padgett, *PCNN models and applications*. Neural Networks, IEEE Transactions on, 1999. 10(3): p. 480-498.
64. Eckhorn, R., et al., *Feature linking via synchronization among distributed assemblies: Simulations of results from cat visual cortex*. Neural Comput., 1990. 2(3): p. 293-307.

65. Skourikhine, A.N., L. Prasad, and B.R. Schlei, *Neural network for image segmentation*. Applications and Science of Neural Networks, Fuzzy Systems and Evolutionary Computation III, 2000. SPIE 4120: p. 28-35.